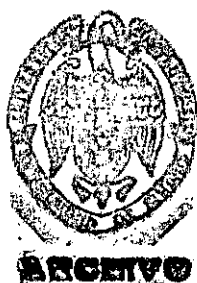


UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA I



CLÁSICOS Y NUEVOS ENFOQUES EN EL DIAGNÓSTICO
Y TRATAMIENTO DE LAS INFECCIONES URINARIAS
EXTRAHOSPITALARIAS



* 5 3 0 9 8 3 7 2 1 0 *
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

TESIS DOCTORAL

JOSÉ LUIS VALLE RODRÍGUEZ

MADRID, 1997

Doña M.^a Luisa Gómez-Lus Centelles, Profesora Titular del Departamento de Microbiología 1 de la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid.

CERTIFICA:

Que D. José Luis Valle Rodríguez, Licenciado en Medicina y Cirugía, ha realizado bajo su dirección la Tesis Doctoral titulada: CLÁSICOS Y NUEVOS ENFOQUES EN EL DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO DE LAS INFECCIONES URINARIAS EXTRAHOSPITALARIAS, en el Departamento de Microbiología 1 de la Facultad Complutense de Madrid, para optar al grado de Doctor en Medicina y Cirugía.

Y para que así conste a los efectos oportunos, firmo la presente certificación en Madrid, a 10 de junio de mil novecientos noventa y siete.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Luisa Gómez-Lus', with a stylized flourish at the end.

Fdo. M.^a Luisa Gómez-Lus Centelles

INFORME DEL DIRECTOR DE LA TESIS

MARIA LUISA GOMEZ-LUS CENTELLES, PRFESORA TITULAR DE UNIVERSIDAD DE LA UNIVER
SIDAD COMPLUTENSE DE MADRID, y DIRECTORA DE LA TESIS DOCTORAL DE D. JOSE LUIS
VALLE RODRIGUEZ, TITULADA: CLASICOS Y NUEVOS ENFOQUE EN EL DIAGNOSTICO Y
TRATAMIENTO DE LAS INFECCIONES URINARIAS EXTRAHOSPITALARIAS",

INFORMA: Que dicho Trabajo de Investigación ha sido realizado bajo mi
dirección durante los Cursos académicos de 1991 a 1996, y reúne todos y cada
uno de los requisitos exigidos para la colación de grado de Doctor.

Vº Bº
EL TUTOR (2)

El Director de la Tesis



Fdo.: _____
(Fecha y firma)

DNI

Fdo.: MARIA LUISA GOMEZ-LUS CENTELLES
(Fecha y firma) 24-6-1997

DNI 17.708.569

INFORME DEL CONSEJO DE DEPARTAMENTO

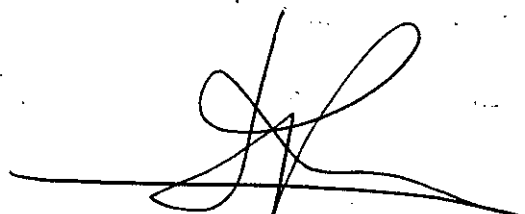
JOSE PRIETO PRIETO, DIRECTOR DEL DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA I DE LA
FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID,

INFORMA: Que una vez examinado el Trabajo presentado por D. JOSE LUIS
VALLE RODRIGUEZ, dirigida por Dª MARIA LUISA GOMEZ-LUS CENTELLES, este
Departamento da su conformidad para que dicho Trabajo sea leído y defendido
en público con vistas a su aprobación como Tesis Doctoral.

Fecha reunión
Consejo Departamento

25/VI/97

El Director del Departamento



Fdo.: JOSE PRIETO PRIETO
(Fecha y firma) 25-6-1997

*A Mari Fé, M.^a Eugenia,
Elena y Presentación, por su amor*

Deseo expresar mi más sincero agradecimiento a todas aquellas personas que con su colaboración han hecho posible la realización de esta Tesis Doctoral.

Al Profesor José Prieto Prieto, Catedrático de Microbiología de la Facultad de Medicina, lugar donde se realizó la tesis, por permitirme pertenecer a su equipo concediéndome los medios, consejos y todo lo necesario para realizarlo.

A Doña M.^a Luisa Gómez-Luz Centelles, profesora titular de Microbiología de la Facultad de Medicina y directora de este trabajo, por su constante apoyo, orientación y sincera amistad.

A mi querido amigo el Profesor Manuel López-Brea de cuya mano me inicié en el conocimiento microbiológico, y por su ejemplo de constancia y honestidad en el trabajo científico.

A Doña M.^a Paz Sobrino Vegas, por su brillante colaboración en los estudios estadísticos.

A José Manuel Huertas Valle (técnico en Artes Gráficas), por su excelente y laborioso trabajo informático. Realmente, sin él, hubiera sido imposible ver plasmado de forma tan correcta todo el conjunto de datos, ideas y resultados elaborados durante estos años.

A José Huertas López, que supervisó todo el texto matizando la forma y el estilo literario brillantemente, como él saber hacerlo.

A mi compañera de la Clínica San Camilo, la doctora Doña Magdalena Cantó Ferreira, por compartir mis sueños e ilusiones, animándome en los malos momentos.

A mi maestro el doctor Juan Fernández Pérez, intensivista de la Clínica San Camilo, a quien mucho debo, tanto personal como profesionalmente. Su actitud diaria de responsabilidad y buen hacer es un ejemplo constante.

A mi amigo el doctor José Conesa Vicenta, nefrólogo, por su importante colaboración en el trabajo fotográfico.

A los doctores García-Amado García y Noriega Díaz, que con su amistad, compartieron sus amplios conocimientos para elaborar las diapositivas, así como en las búsquedas bibliográficas.

A la doctora Carmen Ramos, compañera del Departamento de Microbiología de la Facultad de Medicina, por su apoyo incondicional desde el principio.

A mis padres y a mi hermana M.^a Gloria, por el esfuerzo que realizaron para que pudiera estudiar; inculcándome la importancia del estudio y la valoración del trabajo diario bien hecho.

A todos aquellos que nos rodean y que, sin saberlo, nos hacen cada momento de la vida más agradable.

*"Frente al sí y al no de un problema está la duda.
La duda inteligente es la posición provisional de todo hombre
que adopte una actitud científica en la vida."*

*(Dr. don Gregorio Baquero Gil
De su diario, Madrid 3/XII/1939)*

ÍNDICE

	<u>Págs.</u>
I. INTRODUCCIÓN	25
1. LA INFECCIÓN URINARIA	27
1.1. GENERALIDADES	27
1.2. ETIOPATOGENIA	31
1.3. CLÍNICA	36
1.4. DIAGNÓSTICO	37
1.5. TRATAMIENTO	41
2. ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA	43
2.1. OTROS EFECTOS	49
3. CARACTERÍSTICAS DE LOS ANTIMICROBIANOS ENSAYADOS	50
3.1. AMOXICILINA-ÁCIDO CLAVULÁNICO	50
3.1.1. Estructura química	50
3.1.2. Espectro antibacteriano	51
3.1.3. Mecanismo de acción	52
3.1.4. Resistencias	52

	<u>Págs.</u>
3.1.5. Farmacocinética	52
3.1.6. Efectos secundarios	53
3.1.7. Indicaciones	53
3.2. CEFUROXIMA-AXETIL	53
3.2.1. Estructura química	54
3.2.2. Espectro antibacteriano	54
3.2.3. Mecanismo de acción	55
3.2.4. Farmacocinética	55
3.2.5. Efectos secundarios	55
3.2.6. Contraindicaciones	56
3.2.7. Interacciones	56
3.3. FOSFOMICINA	56
3.3.1. Aspectos generales	56
3.3.2. Estructura química	57
3.3.3. Mecanismo de acción	57
3.3.4. Espectro antibacteriano	58
3.3.5. Farmacocinética	58
3.3.6. Efectos secundarios y reacciones adversas	59
3.3.7. Mecanismos de resistencia	60
3.3.8. Indicaciones clínicas	60
3.3.9. Contraindicaciones	61
3.3.10. Interacciones	61
3.4. TRIMETOPRIM-SULFAMETOXAZOL	61
3.4.1. Aspectos generales	61
3.4.2. Estructura química	61
3.4.3. Mecanismo de acción	62
3.4.4. Espectro de actividad	63

	<u>Págs.</u>
3.4.5. Farmacocinética	63
3.4.6. Efectos secundarios y reacciones adversas	64
3.4.7. Mecanismos de resistencia	64
3.4.8. Indicaciones clínicas	65
3.4.9. Contraindicaciones	65
3.4.10. Interacciones	65
3.5. QUINOLONAS: ASPECTOS GENERALES	65
3.5.1. Estructura química	66
3.5.2. Mecanismo de acción	68
3.5.3. Otros probables mecanismos de acción	68
3.5.4. Espectro de actividad	69
3.5.5. Farmacocinética	69
3.5.6. Efectos secundarios y reacciones adversas	70
3.5.7. Mecanismos de resistencia	71
1. ^a Mutaciones que afectan a la ADN-girasa	72
2. ^a Mutaciones que afectan a la permeabilidad	72
3.5.8. Indicaciones clínicas	73
3.5.9. Contraindicaciones	75
3.5.10. Interacciones	75
3.6. CIPROFLOXACINO	76
3.6.1. Estructura química	76
3.6.2. Espectro antibacteriano	77
3.6.3. Resistencias	77
3.6.4. Farmacocinética	77
3.6.5. Efectos secundarios	78
3.7. FLEROXACINO	78
3.7.1. Estructura química	78

	<u>Págs.</u>
3.7.2. Espectro antibacteriano	78
3.7.3. Resistencias	79
3.7.4. Farmacocinética	79
3.7.5. Efectos secundarios	79
3.8. NORFLOXACINO	80
3.8.1. Estructura química	80
3.8.2. Espectro antibacteriano	80
3.8.3. Resistencias	81
3.8.4. Farmacocinética	81
3.8.5. Efectos secundarios	81
3.9. OFLOXACINO	81
3.9.1. Estructura química	81
3.9.2. Espectro antibacteriano	82
3.9.3. Resistencias	82
3.9.4. Farmacocinética	83
3.9.5. Efectos secundarios	83
3.10. PEFLOXACINO	83
3.10.1. Estructura química	83
3.10.2. Espectro antibacteriano	84
3.10.3. Resistencias	84
3.10.4. Farmacocinética	84
3.10.5. Efectos secundarios	84
4. FACTORES A CONSIDERAR EN EL TRATAMIENTO DE ITUs	85
4.1. MEDIDA Y SIGNIFICADO DE LA ACTIVIDAD ANTIBIÓTICA EN ORINA	91
4.2. ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL APARATO URINARIO	91
4.2.1. Actividad antibacteriana intrínseca de la orina	91
4.2.2. Actividad antibacteriana intrínseca de la vejiga	92
4.2.3. Modificación de la actividad bactericida en orina	93

	<u>Págs.</u>
4.3. NIVELES ANTIMICROBIANOS DE LA ORINA FRENTE A NIVELES SÉRICOS	93
4.4. CAPACIDAD BACTERICIDA URINARIA DE LOS ANTIMICROBIANOS	97
II. OBJETIVOS	99
III. MATERIALES Y MÉTODOS	103
1. POBLACIÓN	105
1.2. TIRAS REACTIVAS MÚLTIPLES AMES (BAYER-DIAGNOSTIC): MULTISTIX 10 SG	105
1.3. PROCEDENCIA Y PROTOCOLO DEL ESTUDIO DE LAS MUESTRAS	105
1.4. MICROORGANISMOS	111
1.5. ANTIMICROBIANOS	112
1.6. DETERMINACIÓN DE CMI Y CMB A LAS CEPAS PROBLEMÁTICAS	113
1.7. DETERMINACIÓN DE LA CURVA DE LETALIDAD	114
1.8. EFECTO POSTANTIBIÓTICO	115
1.9. CARACTERÍSTICAS DEL ENSAYO CLÍNICO PARA EL ESTUDIO DE PBUS Y NIVELES URINARIOS DE NORFLOXACINO	116
1.9.1. Tipo de ensayo clínico	116
1.9.2. Definición de los sujetos experimental y testigos	117
1.9.3. Criterios de inclusión	117
1.9.4. Criterios de exclusión	117
1.9.5. Definición del tratamiento a seguir	118
1.9.6. Toma de muestras y procesamiento de las mismas	118
1.10. MÉTODO PARA REALIZACIÓN DE ACTIVIDAD BACTERICIDA URINARIA (PBU) ...	118
1.11. PROCEDIMIENTO PARA LA REALIZACIÓN DE LOS NIVELES ANTIMICROBIANOS DE ORINA	119
1.12. ESTUDIO DE FACTOR DE VIRULENCIA (HEMOLISINAS)	121
1.13. FARMACOECONOMÍA	122
1.14. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS	122

	<u>Págs.</u>
IV. RESULTADOS	123
1. DISTRIBUCIÓN POR SEXOS Y EDADES	125
2. CLÍNICA: DE ITU POR <i>E. COLI</i> CON Y SIN HEMOLISINAS	127
3. ETIOLOGÍA	128
4. NUEVAS CONDICIONES DE CULTIVO	131
5. PRESENTACIÓN DE HEMOLISINAS ASOCIADO A RESISTENCIAS ANTIMICROBIANAS	132
6. ESTUDIO DE SENSIBILIDADES	134
7. DETERMINACIONES DIAGNÓSTICAS	134
7.1. ASPECTOS DE LA ORINA	135
7.2. PRUEBA DE LEUCOCITOS-ESTERASA	136
7.3. PRESENCIA DE NITRITOS	137
7.4. PRESENCIA DE MÁS DE 10 PMN POR CAMPO EN SEDIMENTO URINARIO	138
7.5. PRESENCIA DE MÁS DE CINCO BACTERIAS POR CAMPO EN SU	138
7.6. TINCIÓN DE GRAM (PRESENCIA DE UN BACILO/CAMPO)	138
7.7. TINCIÓN DE GRAM (PRESENCIA DE >5 BACILOS/CAMPO)	139
7.8. ASPECTO TURBIO CON LEUCOCITO-ESTERASA Y NITRITOS POSITIVOS	139
7.9. REACCIONES DE LEUCOCITO-ESTERASA Y NITRITOS ASOCIADOS A LA PRESENCIA DE UN BACILO/CAMPO EN EL GRAM	139
7.10. REACCIONES DE LEUCOCITO-ESTERASA Y NITRITOS POSITIVOS ASOCIADOS A >5 BACILOS/CAMPO EN EL GRAM	140
7.11. REACCIONES DE LEUCOCITO-ESTERASA Y NITRITOS POSITIVOS CON PRESENCIA DE BACTERIAS EN SEDIMENTO URINARIO	140
7.12. SEDIMENTO URINARIO CON >10 PMN/C Y >5 BACILOS/C	141
7.13. PRESENCIA DE LEUCOCITO-ESTERASA Y NITRITOS	141
8. DETERMINACIÓN DE CMI Y DE LA CMB.....	143
9. EFECTO POSTANTIBIÓTICO	145
9.1. EPA DE CIPROFLOXACINO	145

	<u>Págs.</u>
9.1.1. Frente a <i>E. coli</i> ATCC 25922	145
9.1.2. Frente a <i>E. coli</i> aislado clínico (Hemolisina +)	145
9.1.3. Frente a <i>E. coli</i> NCTC 11560	146
9.2. EPA DE OFLOXACINO	146
9.2.1. Frente a <i>E. coli</i> ATCC 25922	146
9.2.2. Frente a <i>E. coli</i> aislado clínico (Hemolisina +)	146
9.2.3. Frente a <i>E. coli</i> NCTC 11560	146
9.3. EPA DE PEFLOXACINO	147
9.3.1. Frente a <i>E. coli</i> ATCC 25922	147
9.3.2. Frente a <i>E. coli</i> aislado clínico (Hemolisina +)	147
9.3.3. Frente a <i>E. coli</i> NCTC 11560	147
9.4. EPA DE FLEROXACINO	147
9.4.1. Frente a <i>E. coli</i> ATCC 25922	147
9.4.2. Frente a <i>E. coli</i> aislado clínico (Hemolisina +)	148
9.4.3. Frente a <i>E. coli</i> NCTC 11560	148
9.5. EPA DE NORFLOXACINO	148
9.5.1. Frente a <i>E. coli</i> ATCC 25922	148
9.5.2. Frente a <i>E. coli</i> aislado clínico (Hemolisina +)	148
9.5.3. Frente a <i>E. coli</i> NCTC 11560	149
9.6. EPA DE AMOXICILINA-ÁCIDO CLAVULÁNICO	149
9.6.1. Frente a <i>E. coli</i> ATCC 25922	149
9.6.2. Frente a <i>E. coli</i> aislado clínico (Hemolisina +)	149
9.6.3. Frente a <i>E. coli</i> NCTC 11560	149
9.7. EPA DE CEFUROXIMA-AXETIL	150
9.7.1. Frente a <i>E. coli</i> ATCC 25922	150
9.7.2. Frente a <i>E. coli</i> aislado clínico (Hemolisina +)	150
9.7.3. Frente a <i>E. coli</i> NCTC 11560	150
9.8. EPA DE TRIMETOPRIM-SULFAMETOXAZOL	150

	<u>Págs.</u>
9.8.1. Frente a <i>E. coli</i> ATCC 25922	150
9.8.2. Frente a <i>E. coli</i> aislado clínico (Hemolisina +)	151
9.8.3. Frente a <i>E. coli</i> NCTC 11560	151
9.9. EPA DE FOSFOMICINA	151
9.9.1. Frente a <i>E. coli</i> ATCC 25922	151
9.9.2. Frente a <i>E. coli</i> aislado clínico (Hemolisina +)	151
9.9.3. Frente a <i>E. coli</i> NCTC 11560	152
10. NIVELES ANTIMICROBIANOS EN ORINA	152
11. PODERES BACTERICIDAS URINARIOS DE NORFLOXACINO	152
12. FARMACOECONOMÍA	153
12.1. COSTES DEL DIAGNÓSTICO DE ITU EXTRAHOSPITALARIO	153
12.2. COSTES DEL TRATAMIENTO DE ITU EXTRAHOSPITALARIO	153
V. GRÁFICOS	158
1. Curva de crecimiento y letalidad de <i>E. coli</i> ATCC 25922 frente a ciprofloxacino	159
2. Curva de crecimiento y letalidad de <i>E. coli</i> (hemolisina +) frente a ciprofloxacino	160
3. Curva de crecimiento y letalidad de <i>E. coli</i> NCTC 11560 (productor de TEM-1) frente a ciprofloxacino	161
4. Curva de EPA de ciprofloxacino frente a <i>E. coli</i> ATCC 25922	162
5. Curva de EPA de ciprofloxacino frente a <i>E. coli</i> (hemolisina +)	163
6. Curva de EPA de ciprofloxacino frente a <i>E. coli</i> NCTC 11560 (productor de TEM-1)	164
7. Curva de crecimiento y letalidad de <i>E. coli</i> ATCC 25922 frente a ofloxacino	165
8. Curva de crecimiento y letalidad de <i>E. coli</i> (hemolisina +) frente a ofloxacino	166

	<u>Págs.</u>
9. Curva de crecimiento y letalidad de <i>E. coli</i> NCTC 11560 (productor de TEM-1) frente a ofloxacino	167
10. Curva de EPA de ofloxacino frente a <i>E. coli</i> ATCC 25922	168
11. Curva de EPA de ofloxacino frente a <i>E. coli</i> (hemolisina +)	169
12. Curva de EPA de ofloxacino frente a <i>E. coli</i> NCTC 11560 (productor de TEM-1)	170
13. Curva de crecimiento y letalidad de <i>E. coli</i> ATCC 25922 frente a pefloxacino	171
14. Curva de crecimiento y letalidad de <i>E. coli</i> (hemolisina +) frente a pefloxacino	172
15. Curva de crecimiento y letalidad de <i>E. coli</i> NCTC 11560 (productor de TEM-1) frente a pefloxacino	173
16. Curva de EPA de pefloxacino frente a <i>E. coli</i> ATCC 25922	174
17. Curva de EPA de pefloxacino frente a <i>E. coli</i> (hemolisina +)	175
18. Curva de EPA de pefloxacino frente a <i>E. coli</i> NCTC 11560 (productor de TEM-1)	176
19. Curva de crecimiento y letalidad de <i>E. coli</i> ATCC 25922 frente a fleroxacino a CMI y 10 CMI	177
20. Curva de crecimiento y letalidad de <i>E. coli</i> (hemolisina +) frente a fleroxacino	178
21. Curva de crecimiento y letalidad de <i>E. coli</i> NCTC 11560 (productor de TEM-1) frente a fleroxacino	179
22. Curva de EPA de fleroxacino frente a <i>E. coli</i> ATCC 25922	180
23. Curva de EPA de fleroxacino frente a <i>E. coli</i> (hemolisina +)	181
24. Curva de EPA de fleroxacino frente a <i>E. coli</i> NCTC 11560 (productor de TEM-1)	182

	<u>Págs.</u>
25. Curva de crecimiento y letalidad de <i>E. coli</i> ATCC 25922 frente a norflo- xacino	183
26. Curva de crecimiento y letalidad de <i>E. coli</i> (hemolisina +) frente a norflo- xacino	184
27. Curva de crecimiento y letalidad de <i>E. coli</i> NCTC 11560 (productor de TEM-1) frente a norfloxacinó	185
28. Curva de EPA de norfloxacinó frente a <i>E. coli</i> ATCC 25922	186
29. Curva de EPA de norfloxacinó frente a <i>E. coli</i> (hemolisina +)	187
30. Curva de EPA de norfloxacinó frente a <i>E. coli</i> NCTC 11560 (productor de TEM-1)	188
31. Curva de crecimiento y letalidad de <i>E. coli</i> ATCC 25922 frente a amoxi- cilina-ácido clavulánico	189
32. Curva de crecimiento y letalidad de <i>E. coli</i> (hemolisina +) frente a amoxi- cilina-ácido clavulánico	190
33. Curva de crecimiento y letalidad de <i>E. coli</i> NCTC 11560 (productor de TEM-1) frente a amoxicilina-ácido clavulánico	191
34. Curva de EPA de amoxicilina-ácido clavulánico frente a <i>E. coli</i> ATCC 25922	192
35. Curva de EPA de amoxicilina-ácido clavulánico frente a <i>E. coli</i> (hemo- lisina +)	193
36. Curva de EPA de amoxicilina-ácido clavulánico frente a <i>E. coli</i> NCTC 11560 (productor de TEM-1)	194
37. Curva de crecimiento y letalidad de <i>E. coli</i> ATCC 25922 frente a cefuroxima	195
38. Curva de crecimiento y letalidad de <i>E. coli</i> (hemolisina +) frente a cefuroxima	196

	<u>Págs.</u>
39. Curva de crecimiento y letalidad de <i>E. coli</i> NCTC 11560 (productor de TEM-1) frente a cefuroxima	197
40. Curva de EPA de cefuroxima frente a <i>E. coli</i> ATCC 25922	198
41. Curva de EPA de cefuroxima frente a <i>E. coli</i> (hemolisina +)	199
42. Curva de EPA de cefuroxima frente a <i>E. coli</i> NCTC 11560 (productor de TEM-1)	200
43. Curva de crecimiento y letalidad de <i>E. coli</i> ATCC 25922 frente a cotrimoxazol	201
44. Curva de crecimiento y letalidad de <i>E. coli</i> (hemolisina +) frente a cotrimoxazol	202
45. Curva de crecimiento de letalidad de <i>E. coli</i> NCTC 11560 (productor de TEM-1) frente a cotrimoxazol	203
46. Curva de EPA de cotrimoxazol frente a <i>E. coli</i> ATCC 25922	204
47. Curva de EPA de cotrimoxazol frente a <i>E. coli</i> (hemolisina +)	205
48. Curva de EPA de cotrimoxazol frente a <i>E. coli</i> NCTC 11560 (productor de TEM-1)	206
49. Curva de crecimiento y letalidad de <i>E. coli</i> ATCC 25922 frente a fosfomicina	207
50. Curva de crecimiento y letalidad de <i>E. coli</i> (hemolisina +) frente a fosfomicina	208
51. Curva de crecimiento y letalidad de <i>E. coli</i> NCTC 11560 (productor de TEM-1) frente a fosfomicina	209
52. Curva de EPA de fosfomicina frente a <i>E. coli</i> ATCC 25922	210
53. Curva de EPA de fosfomicina frente a <i>E. coli</i> (hemolisina +)	211
54. Curva de EPA de fosfomicina frente a <i>E. coli</i> NCTC 11560 (productor de TEM-1)	212

	<u>Págs.</u>
55. Curva de PBU de norfloxacinó frente a <i>E. coli</i> cepa 25922 en voluntario 1 ...	213
56. Curva de PBU de norfloxacinó frente a <i>E. coli</i> cepa 25922 en voluntario 2 ...	214
57. Curva de PBU de norfloxacinó frente a <i>E. coli</i> cepa 25922 en voluntario 3 ...	215
58. Curva de PBU de norfloxacinó frente a <i>E. coli</i> cepa 25922 en voluntario 4 ...	216
59. Curva de PBU de norfloxacinó frente a <i>E. coli</i> cepa 25922 en voluntario 5 ...	217
60. Curva de PBU de norfloxacinó frente a <i>E. coli</i> cepa 25922 en voluntario 6 ...	218
61. Curva de PBU de norfloxacinó frente a <i>E. coli</i> cepa 25922 en voluntario 7 ...	219
62. Curva de PBU de norfloxacinó frente a <i>E. coli</i> cepa 25922 en voluntario 8 ...	220
63. Curva de PBU de norfloxacinó frente a <i>E. coli</i> cepa 25922 en voluntario 9 ...	221
64. Curva de PBU de norfloxacinó frente a <i>E. coli</i> cepa 25922 en voluntario 10 ...	222
65. Curva de PBU de norfloxacinó frente a <i>E. coli</i> cepa 25922 en voluntario 11 ...	223
66. Curva de PBU de norfloxacinó frente a <i>E. coli</i> cepa 25922 en voluntario 12 ...	224
67. Curva de PBU medios de norfloxicino frente a <i>E. coli</i> ATCC 25922	225
 VI. DISCUSIÓN	 227
1. FACTORES PATOGENICOS <i>E. COLI</i> : HEMOLISINAS	229
2. CONDICIONES DE CULTIVO	231
3. ÍNDICE DE POSITIVIDAD	233
4. ETIOLOGÍA	233
5. SÍNTOMAS CLÍNICOS	234
6. RESISTENCIAS DE <i>E. COLI</i> EXTRAHOSPITALARIOS AISLADOS EN EL ESTUDIO	235
7. EFECTOS POSTANTIBIÓTICO (EPA)	236
7.1. EVALUACIÓN DE LAS PROPIEDADES DEL INÓCULO INICIAL	237
7.1.1. Influencia de las propiedades del inóculo inicial	238
7.1.2. Influencia del medio del cultivo	238

	<u>Págs.</u>
7.1.3. Influencia del pH del medio	239
7.1.4. Influencia del tiempo de exposición	240
7.1.5. Influencia del método de eliminación del antimicrobiano	240
7.1.6. Influencia del método de recuento de UFC en la determina- ción de EPA	241
7.2. ANÁLISIS DE RESULTADOS	243
7.2.1. Mecanismos del EPA	243
7.2.2. Resultados del trabajo/	245
7.2.3. Aplicaciones clínicas del EPA	247
8. PODER BACTERICIDA URINARIO Y NIVELES URINARIOS CORRES- PONDIENTES A NORFLOXACINO	249
9. MÉTODOS DIAGNÓSTICOS	252
10. FARMACOECONOMÍA	255
10.1. COSTES DEL DIAGNÓSTICO ITU EXTRAHOSPITALARIO	256
10.2. COSTES DEL TRATAMIENTO ITU EXTRAHOSPITALARIO	257
 VII. CONCLUSIONES	 261
VIII. BIBLIOGRAFÍA	265

ABREVIATURAS

ITUs: Infección tracto urinario.

E. coli: Echerichia coli.

IgA: Inmunoglobulina A.

UFC/ml: Unidades formadores de colonias/ml.

AP: Anatomía patológica.

ATP: Adenosín trifosfato.

CMI: Concentración mínima inhibidora.

CMB: Concentración mínima bactericida.

EPA: Efecto postantibiótico.

RNA: Ácido ribonucleico.

AMP: Adenín monofosfato.

PALE: Efecto postantibiótico leucocitario.

LCR: Líquido ceforraquídeo.

TU: Tracto urinario.

IU: Infección urinaria.

VO: Vía oral.

PBUS: Poderes bactericida urinario.

LPS: Lipopolisacáridos.

SNA: Sistema nervioso autónomo.

TEM-1: Tipo de betalactamasa.

NaCl: Cloruro sódico.

PMN/C: Polimorfonudeaser/campo.

B/C: Bacteria por campo.

API 20E.: Método de identificación de enterobacterias.

r.p.m.: Revoluciones por minuto.

RAM: Reacción adversa medicamentosa

I. INTRODUCCIÓN

1. LA INFECCIÓN URINARIA

1.1. GENERALIDADES

Las infecciones del tracto urinario (ITUs) constituyen uno de los principales problemas de salud pública, con relación al número de personas afectadas y al coste asociado a ellas.

Representan entre el 0,8% y el 6% de todas las consultas atendidas en Atención Primaria¹. En Estados Unidos se producen aproximadamente entre cinco y seis millones de visitas médicas por esta causa anualmente², afectando del 10 al 20% de todas las mujeres en algún momento de su vida. El coste del diagnóstico y tratamiento de un cuadro de cistitis es de 140 dólares aproximadamente³.

Bacteriuria es el más común, principalmente en mujeres, con gran diferencia con relación al hombre⁴. Únicamente en los primeros años de la vida es cuando la prevalencia puede ser más elevada en niños, en los que coinciden ciertos factores, siendo la presencia de fimosis la más frecuente⁵. Entre 1-50 años las ITUs en varones no sometidos a instrumentación son escasas. La penetración o relación sexual, anal particularmente en

hombres homosexuales, incrementa el riesgo de ITUs por exposición de la uretra a elevadas concentraciones de *E. coli* fecal⁶. La prevalencia de ITUs en edad preescolar y escolar en niñas es aproximadamente entre 1-3%, unas 30 veces más que en los niños⁷, estimando que aproximadamente el 5% de las muchachas tendrán uno o más episodios de ITU durante sus años escolares. La prevalencia de bacteriuria se incrementa con la edad, siendo en los años de fertilidad unas 50 veces más frecuente que en los hombres. En la vejez, la prevalencia de bacteriuria es aproximadamente 20-30%; las mujeres adultas experimentan uno o más episodios de disuria anualmente, representando la mayoría de ellos ITU⁸.

Las anomalías anatómicas y funcionales e instrumentaciones del tracto urinario predisponen a ambos sexos a padecer ITU. La bacteriuria en hombres no sometidos a instrumentación casi siempre hace obligado un estudio para descartar anomalías asociadas. En hombres mayores, la bacteriuria está relacionada con anomalías en la glándula prostática. En niñas con menos de un año hace sospechar anomalía en el aparato urinario. En jovencitas y mujeres adultas se presenta infrecuentemente la detección de anomalías asociada con bacteriuria. Reflujo vesicoureteral es la patología más común encontrada en niños y niñas, y su anomalía asociada con bacteriuria predispone a afectación renal y enfermedad renal crónica⁹.

Muchas mujeres con ITU presentan una o más recurrencias. Se consideran recaídas cuando una infección recurre en una semana tras terminado el tratamiento. Aproximadamente un 80% de las infecciones recurrentes representan reinfecciones desde la flora perineal más que recaídas. Reinfección en mujeres adultas, sin embargo, no es asociado a anomalías en el tracto urinario como se puede detectar por urografía o citoscopia. Con la presente tecnología aún no es posible demostrar fiablemente que las recurrencias de ITU sean una recaída, ya que una cepa bacteriana idéntica de la flora fecal puede causar una reinfección.

Las ITUs recurrentes en mujeres jóvenes sin anormalidades anatómicas en el tracto urinario pueden ser debidas a la gran tendencia a la adherencia de *E. coli* a sus células epiteliales y a la alta prevalencia de colonización vaginal con *E. coli* comparado con mujeres sin ITUs recurrentes^{10, 11}. Como factores intrínsecos de las recurrencias incluimos actividad sexual y uso de diafragmas^{12, 13}, así como la persistencia de colonización vaginal con *E. coli* después del tratamiento de ITU puede ser un factor de fácil infección recurrente.

La bacteriuria en embarazadas, en la vejez y en personas en instituciones comunitarias son de importancia especial a la hora de desarrollar la epidemiología de ITU. La bacteriuria en mujer embarazada es un serio problema que ocurre aproximadamente en el 5% de estas mujeres en el primer trimestre, aumentando con la edad y paridad^{14, 15}.

Sin embargo, sin tratamiento la cuarta parte de estas mujeres embarazadas con bacteriuria temprana desarrollan ITUs sintomáticas (incluyendo pielonefritis), mientras que el tratamiento reduce los subsiguientes riesgos en un 80-90%¹⁶. Además, las bacteriurias persistentes están asociadas con partos prematuros e incremento de mortalidad perinatal¹⁷. El embarazo es una de las pocas ocasiones donde el estudio rutinario en la orina y el tratamiento de la bacteriuria sintomática es recomendable.

En los ancianos de ambos sexos, la bacteriuria es un problema significativo por la elevada prevalencia presente, aportando recientes estudios la asociación entre bacteriuria e incremento de mortalidad^{18, 19}.

La etiología microbiana de ITU difiere entre infección complicada y no complicada. Las no complicadas en mujeres jóvenes adultas son causadas por *E. coli* entre el 70-90%. También intervienen microorganismos, como *Proteus mirabilis* y *Enterococcus faecalis*, entre

otros²⁰. Estos agentes bacterianos son generalmente sensibles a los antimicrobianos usados habitualmente, siendo necesario realizar periódicamente estudios que nos confirmen las posibles modificaciones, tanto en la etiología como en la presencia de resistencias antimicrobianas frente a estos microorganismos.

Se observa con claridad cómo las ITUs son un problema de salud pública generalizado, estimándose que el tratamiento de ITUs no complicadas en mujeres ambulatorias puede aproximarse a un billón de dólares anuales de gasto, según estudios estadounidenses. Generan 5,2 millones de visitas médicas y necesitan ingreso aproximadamente a 100.000 pacientes cada año.

Con la finalidad de facilitar su atención, tanto diagnóstica como terapéutica, es necesario emplear una terminología clara. Entre las muchas aproximaciones conceptuales sobre el tema, la publicada en 1979 por el Medical Research Council's Board²¹ es la más aceptada actualmente, por lo que pasamos a su exposición:

1. *Bacteriuria*: presencia de bacterias en orina.

2. *Bacteriuria significativa*: recuento de colonias igual o superior a 100.000 col/ml de orina recogida por micción espontánea o sondaje, y cualquier número de colonias si la orina fue obtenida por punción renal o suprapúbica.

3. *Bacteriuria asintomática*: bacteriuria significativa detectada en individuos aparentemente sanos.

4. *Bacteriuria parenquimatosa*: el origen de la infección es el parénquima (riñón, próstata, epidídimo o testículo).

5. *Bacteriuria de vías*: el origen de la infección es la vía urinaria (vejiga y uretra).

6. *Síndrome miccional*: asociación de polaquiuria, disuria y tenesmo.

7. *Bacteriuria complicada*: relacionada con alteración orgánica o funcional de una estructura del aparato urinario.

Otros criterios a considerar en el momento de evaluar la respuesta al tratamiento serían:

- a) *Curación microbiológica*: consiste en la desaparición de la bacteriuria por el tratamiento.
- b) *Infección persistente*: la bacteriuria persiste tras el tratamiento.
- c) *Recidiva*: reaparición de bacteriuria postratamiento por el mismo microorganismo.
- d) *Reinfección*: reaparece la bacteriuria postratamiento por microorganismos diferentes al aislado inicialmente.

1.2. ETIOPATOGENIA

A la hora de considerar la etiopatogenia de este proceso infeccioso, es necesario considerar cómo intervienen factores relacionados tanto con el microorganismo responsable como del huésped.

Los microorganismos más frecuentemente responsables de ITUs son los procedentes de la flora intestinal, siendo los principales *E. coli*, *Proteus mirabilis*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*, entre otros, aunque con menor frecuencia también son aislados otros como *Staphylococcus saprophyticus*, *Corynebacterium D2*^{22, 23}, *Streptococcus beta* hemolíticos del grupo B²⁴. Ocasionalmente también se han encontrado, como responsables de la

infección, anaerobios, *Chlamydias*, *Mycoplasma hominis*, *Gardnerella vaginalis*, parásitos como *Trichomonas vaginalis*, *Schistosoma haematobium* y hongos como *Candida* sp.^{25,26}, entre otros.

La presencia de *Proteus mirabilis* es frecuente en niños varones, seguramente por colonización del saco prepucial²⁷. Este germen posee ureasa, desdoblando la urea en amoníaco, alcalinizando la orina y favoreciendo la formación de cálculos de estruvita.

Klebsiella pneumoniae y *Staphylococcus aureas* también producen ureasa, y la primera, además, polisacáridos y mucina, que fijan iones bivalentes y forman cálculos.

Staphylococcus saprophyticus se aísla principalmente en mujeres jóvenes y es frecuente en ciertas comunidades como las nórdicas^{28,29}.

E. coli es el microorganismo más frecuente, con diferencia en ITUs extrahospitalarias. Algunas de estas cepas son especialmente virulentas al poseer ciertos factores patogénicos, desarrollando infecciones en el tracto urinario, principalmente en pacientes con factores de riesgo^{30,31}.

Estas cepas suelen proceder de pacientes sometidos a tratamientos antimicrobianos no siempre adecuados en indicación, dosis o duración, favoreciendo estos hechos la selección de cepas más resistentes. Algunos autores³² encontraron cierta relación entre la presencia de los factores de patogenicidad y la resistencia a antimicrobianos, dificultando la erradicación de ciertas infecciones en pacientes gravemente enfermos. Estos factores patogénicos, entre otros, destacan presencia de antígeno K en la cápsula, presencia de fimbrias tipo 1, presencia de fimbrias P y presencia de hemolisinas³³.

El antígeno K en su cápsula confiere resistencia a la fagocitosis. La pared celular contiene lipopolisacáridos, que son endotoxinas con capacidad de elevar la temperatura y gran toxicidad, llegando por diferentes mecanismos como, activar la cascada de la coagulación o del sistema complemento a un proceso séptico que, no controlado adecuada-

mente, evoluciona al *shock* séptico y posteriormente a la muerte del paciente³⁴. También estas bacterias sintetizan hemolisinas por la acción de un factor citotóxico de ciertos serotipos de *E. coli* (01, 04, 06, 018)³⁵. Otro importante factor patogénico es la presencia de fimbrias, originando la adherencia al epitelio vesical, vaginal o renal, sean fimbrias tipo 1 para las dos primeras o tipo 2 para las restantes.

Una de las partes de este trabajo está dedicada al estudio de la relación entre uno de esos factores de patogenicidad, como es la presencia de hemolisinas y la resistencia a antimicrobianos.

La vía de propagación es fundamentalmente la ascendente, desde el área perineal procedente de las heces con una correlación perfecta en sus serotipos³⁶. Para que la propagación se realice por vía ascendente es preciso que el germen responsable salve distintos niveles. Veamos esquemáticamente este proceso:

COLONIZACIÓN DE LA URETRA TERMINAL: La uretra terminal y zonas periuretrales están colonizadas por microorganismos de la piel^{37, 38}. Pero, en ocasiones, por cambios en el pH, concentración de anticuerpos en la secreción vaginal, de la producción local de IgA y de la propia flora uretral normal, existe un sobrecrecimiento de *E. coli* tanto en uretra terminal como en introito vaginal^{36, 37, 39}.

PASO DEL GERMEN A TRAVÉS DE LA URETRA: Una vez el germen llega a zonas periuretrales, debe encontrar unas circunstancias favorecedoras del ascenso. Durante el coito, la fricción y expresión de la uretra femenina contra el pubis introduce microorganismos procedentes de la uretra a la vejiga. La presión negativa intravesical postmiccional y otros factores provocan el paso a la vejiga. Estos mecanismos no actúan en el hombre al poseer una uretra más larga y defenderse por las secreciones prostáticas ricas en cinc, con efecto bactericida^{40, 41}.

INVASIÓN Y/O COLONIZACIÓN DE LA VEJIGA: Se fundamenta en la presencia de receptores específicos en el uroepitelio, donde se fijarán determinados serotipos de *E. coli*³⁵. El receptor para fimbrias P es un disacárido, componente del glucoesfingo-lípido, que constituye el fenotipo P-1 del grupo sanguíneo P de los hematíes, utilizado también por *Proteus* sp. y *Klebsiella* sp. para su fijación^{42,43}.

Cuando el agente patógeno característico ha alcanzado la vejiga, la capacidad de colonizar o infectar depende de la virulencia de éste y de la eficacia de los mecanismos defensivos de la propia vejiga^{44,45}.

La densidad de la población bacteriana depende del balance entre, por un lado, la eficacia de los mecanismos de defensa de la vejiga y, por otro, del tamaño del inóculo bacteriano inicial y la velocidad de proliferación del germen.

El mecanismo defensivo de la vejiga de mayor eficacia es la dilución de los gérmenes por el flujo de la orina y la eliminación periódica de los mismos por la micción. En conclusión, un tiempo prolongado entre micciones y la retención de orina postmiccional permiten un crecimiento en la orina mejor, facilitando la infección. Los mecanismos intrínsecos de defensa de la mucosa probablemente desempeñan un papel de menor importancia. Lisozima, presencia de IgA secretora⁴⁶ y la actividad fagocitaria de los polimorfonucleares presentes actuando sobre el escaso volumen de orina residual que moja la pared vesical tras micción normal. La proteína de Tamm-Horsfall⁴⁷ secretada por túbulos renales es rica en residuos de manosa y se adhiere a ciertos serotipos de *E. coli*, impidiendo su adherencia y eliminándose por arrastre. Otro factor vesical antiadherente es el glucosaminglicano, que tiene la capacidad de captar agua formando una barrera entre la orina y la mucina que recubre las células vesicales, impidiendo la adherencia.

La vagina se defiende con un triple mecanismo, siendo el más importante su pH

ácido, que depende de la presencia de *Lactobacillus* y de los niveles estrogénicos, seguido de secreción de inmunoglobulinas (IgA, IgG)⁴⁸ y otros agentes antiadherentes poco conocidos⁴⁹.

ASCENSO DEL GERMEN A PELVIS RENAL: Existen tres principales mecanismos que facilitan el ascenso del germen hacia el riñón, como son:

1. Presencia de reflujo vesicoureteral⁵⁰ por fallo del mecanismo valvular que cierra el uréter que atraviesa la pared de la vejiga.
2. Presencia de gérmenes con flagelos⁵¹ como el *Proteus* spp., pudiendo avanzar contra corriente y alcanzar la pelvis renal.
3. Presencia de cepas bacterianas con fimbrias P, que les permiten adherirse a la pared del urotelio⁵².

Una vez alcanzado el riñón por el patógeno, se localiza la infección en la médula y papila renal. Estudios experimentales realizados por Freedman, L. R., y Beenson⁵³ en conejos demuestran que es necesario inocular 100.000 gérmenes de *E. coli* en la región medular para que ésta se infecte. La particularidad susceptible de la médula a infectarse se debe a que su escasa irritabilidad, la hipertonicidad e hiperamonemia, interfieran en varios de los mecanismos de defensa fisiológicos.

De modo esquemático, la anatomía patológica que presentan los ITUs más frecuentes en la población ambulatoria^{54, 55} sería:

Cistitis: En su fase aguda observaremos hiperemia de la mucosa, conservando en esta fase el carácter aterciopelado de la misma. En estadios más avanzados, la hiperemia puede convertirse en zonas coloreadas hemorrágicas focales o difusas, con precipitación de exudados purulentos de color gris blanquecino o amarillo.

Pielonefritis aguda: El signo histológico característico es la necrosis supurada; la supuración suele presentarse como abscesos focales discretos en uno o en ambos riñones o como áreas extensas de supuración coalescente que destruyen grandes segmentos del riñón. Externamente son observables abscesos elevados, blandos, de color amarillo o blanco, en la superficie cortical, rodeados de bandas hiperémicas.

1.3. CLÍNICA

Algunas ITUs pueden presentarse de manera sintomática y manifestarse por la presencia de bacteriuria con o sin piuria en análisis de orina rutinarios. En otros casos, como en las edades extremas de la vida (niños pequeños y ancianos), no presentan síntomas localizados en aparato urinario, observándose otros tan variados como anorexia, pérdida de peso, dolor abdominal, enuresis y, en el anciano, fiebre y desorientación, puntos que deben tenerse siempre presentes ante estos signos, tanto en unos como en otros^{56, 57}.

En el adulto normal, la cistitis aguda se presenta con disuria, polaquiuria y tenesmo asociado o no a hematuria⁵⁸.

En las prostatitis agudas, la instauración es súbita, con polaquiuria, disuria, tenesmo, dolor suprapúbico-perineal y fiebre⁵⁹.

En pielonefritis aguda, fiebre elevada, escalofríos, sudoración, asternia...

Dolor lumborrenal con puñopercusión positiva del riñón afecto es lo más frecuente. En ocasiones, pueden surgir estados de desorientación.

1.4. DIAGNÓSTICO

En condiciones normales la orina es estéril, aunque puede contaminarse a su paso por la uretra. Cuando existe presencia de microorganismos en el aparato urinario, la forma más sencilla de diagnosticarlo es investigando la presencia de éstos en la orina. En la mayoría de los casos, la recogida de muestras para el posterior análisis se realizará de manera sencilla y sin causar ninguna molestia al paciente, ya que será por micción espontánea, permitiendo reconocer el agente causal del proceso infeccioso y posterior estudio de sensibilidades para un seguro tratamiento.

Alcanzar un diagnóstico correcto no es con frecuencia tarea sencilla, presentándose algunas dificultades no siempre posibles de solucionar, como pueden ser la contaminación de la orina, la precaria recogida de la muestra o inadecuado transporte, conservación o procesamiento. No existe un acuerdo entre el número mínimo de UFC/ml que puede dar lugar a infección, y en ocasiones, como ya indicamos, el cuadro clínico es confuso y poco orientativo.

La orina por micción espontánea únicamente necesita, por nuestra parte, aportar una correcta información al paciente, indicando lavado premiccional, porción intermedia de la orina y su emisión inmediata al laboratorio, si es posible en ambiente húmedo, o su almacenamiento en nevera a 4° C por el mínimo tiempo posible.

A la hora de aplicar las técnicas diagnósticas, nos encontramos frente a diversos niveles que pueden oscilar desde métodos rápidos realizables en la propia consulta de atención primaria, que consistirían en leer una tira reactiva^{60, 61}, a otros sofisticados de tecnología⁶², pasando por los clásicos, que actualmente continúan siendo los más utilizados⁶³.

Debido a que sólo de un 20 a 30% de los pacientes con clínica de ITU presentan una bacteriuria significativa⁶⁴, sería muy interesante para el médico de AP disponer de métodos que le permitan distinguir, en la consulta, el paciente que tenga infección del que no la tenga. Esto nos permitiría instaurar tratamiento antimicrobiano hasta conocer el resultado del cultivo y antibiograma, y aquellos en los que al tener una baja probabilidad de padecer una ITU, sería más aconsejable reevaluar el diagnóstico o, si existe fuerte sospecha clínica, esperar resultados del cultivo.

En el extremo de la sencillez y economía podríamos orientarnos observando únicamente el aspecto de la orina de nuestro paciente. Esto ha sido poco estudiado, y con resultados dispares⁶⁵.

Los métodos de diagnóstico rápido se pueden dividir en:

a) *Químicos*: Los más utilizados consisten en demostrar la presencia de nitritos y de leucocitos en la orina. Microorganismos frecuentemente responsables de ITUs metabolizan los nitratos presentes en la orina transformándolos en nitritos, siendo posible la detección de éstos con tiras reactivas impregnadas de ácido parsalínico y tetrahidrobenzo (h) quinolina-3 ol, que vira a color rosa en contacto con nitritos. La cantidad de nitritos dependerá del tiempo que permanezca la bacteria en la orina, que tendrá que ser por lo menos tres horas, y de la dieta del paciente, entre otros factores^{60, 66}.

La presencia de leucocitos en la orina se fundamenta en medir la esterasa de los granulocitos. Se utiliza como sustrato el 3-hidroxi-5-fenil-pirrol esterificado con aminoácido. La hidrólisis de este éster por la esterasa libera el 3-hidroxi-5-fenil-pirrol, el cual reacciona con una sal diazonio, formando color violeta fácilmente diferenciable⁶⁰.

b) *Exámenes microscópicos directos:*

- Examen del sedimento urinario en fresco, que consiste en el estudio por 40 aumentos de una gota de orina previamente centrifugada en unas determinadas condiciones⁶⁷, siendo posible observar la presencia de células, tanto leucocitos, hematíes y otras, bacterias, levaduras y otros elementos⁶⁸ (véase foto 1). Todo esto nos permite diagnosticar bacteriurias asintomáticas, bacteriurias asociadas a componente inflamatorio compatible con ITUs y hasta leucocitos sin bacterias, que pueden orientar hacia otras etiologías^{69, 70}.

- *Tinción de Gram* informa sobre las características del microorganismo y si la cantidad presente es significativa, según algunos trabajos, una bacteria y/o un leucocito con 1.000 aumentos^{71, 72}.

c) *Cultivos:*

Los cultivos de la muestra para alcanzar el diagnóstico de ITUs actualmente continúa siendo el método de referencia para evaluar los diferentes métodos. Consisten en

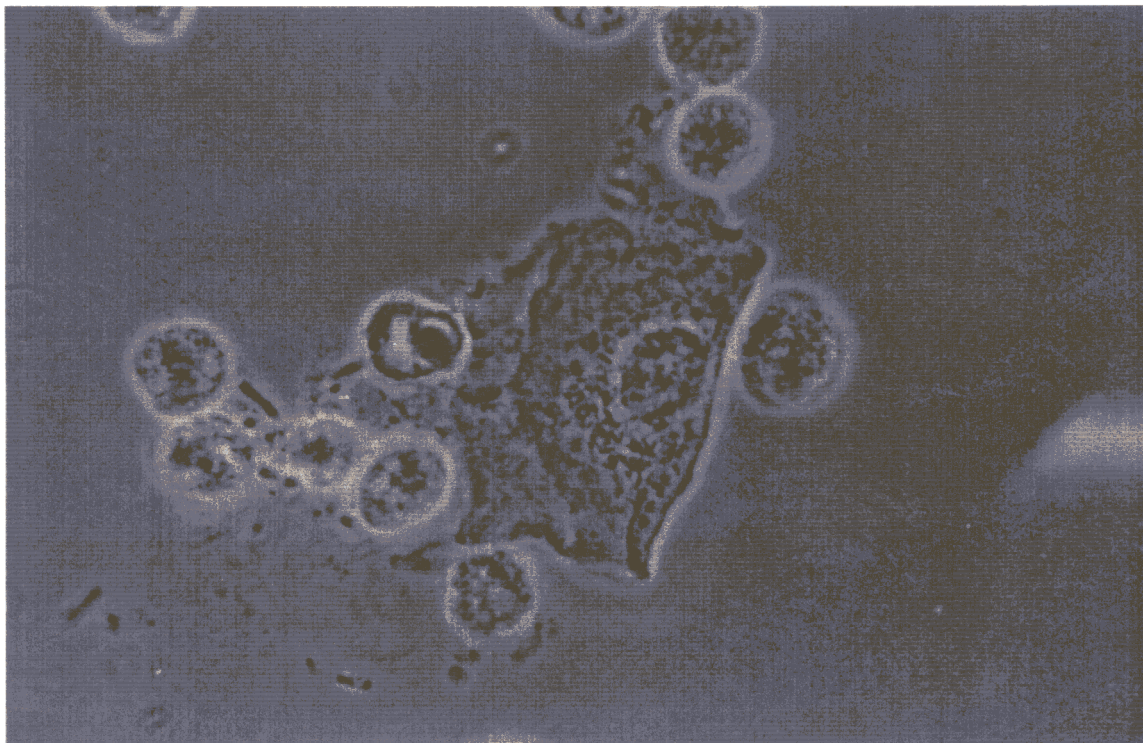


Foto 1

sembrar con asa calibrada de 0,01 ml en los medios tradicionales, como son los medios de Cled y agar sangre que nos indica crecimiento y número de colonias o en nuevos métodos como el denominado CPS ID 2^{73, 74} (véase foto 2), de aparición reciente en el mercado. Están diseñadas para la identificación directa de los microorganismos más frecuentemente responsables de ITU (*E. coli*, *Proteus* sp., *Enterococcus*) gracias a la adición al agar de los substratos necesarios para evidenciar cuatro actividades enzimáticas específicas, como son B-D glucuronidasa, B-D glucosidasa, triptofanasa y desaminasa. Tras 18 horas de incubación se realiza el recuento bacteriano y la identificación del germen, aplicando los criterios de Kass⁷⁵: más de 100.000 UFC/ml indica probable bacteriuria significativa en un 80%. Entre 10.000-100.000 UFC/ml sería dudosa y menos de 10.000 UFC/ml sería contaminación. Actualmente los criterios se encuentran en revisión, recomendando la flexibilidad en las interpretaciones, según la clínica, diagnóstico, tipo de microorganismo aislado, recuento de leucocitos, concentración de la orina, etc.

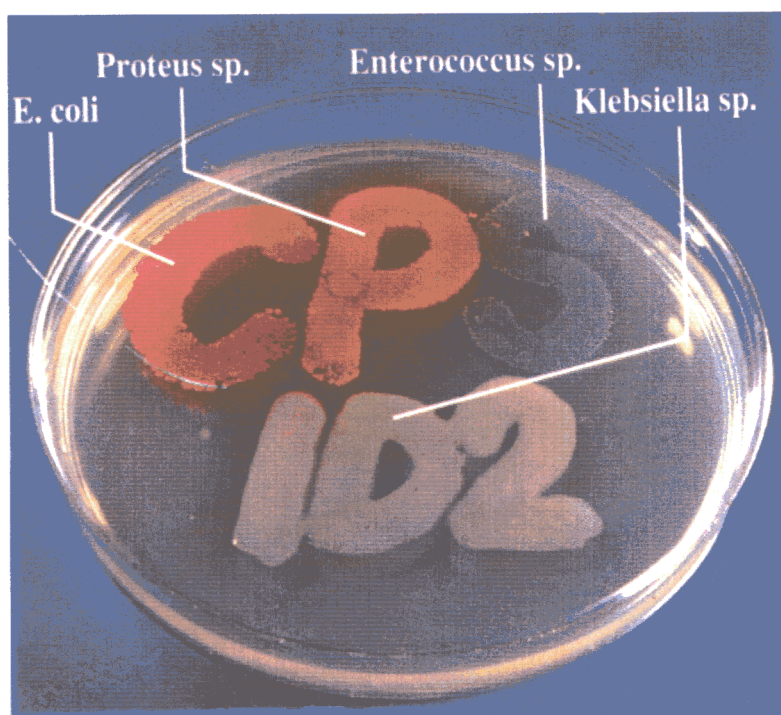


Foto 2

No debemos olvidar la existencia de métodos automáticos de diagnóstico, que nos detecta crecimiento de bacterias con buenos resultados. Otros detectan producción de ciertos componentes bacterianos como catalasa, ATP por diferentes métodos como fluorescencia y colorimetría⁷⁶. Estos métodos presentan sus limitaciones para microorganismos de crecimiento lento, y tienen dificultades para el diagnóstico de *Staphylococcus* y levaduras. La presencia de cristales, cilindros y células puede interferir.

Algunos investigadores han añadido medios ricos en hemoglobina incubando en medio rico en CO₂, encontrando microorganismos como *Bacillus*, *Haemophilus* y *Corynebacterias*, entre otros, cuyo protagonismo en las ITUs aún no está probado.

1.5. TRATAMIENTO

En el momento de tener que instaurar un tratamiento antimicrobiano para ITUs o cualquier otro proceso infeccioso, es necesario tener presente cómo el éxito de dicho tratamiento dependerá, además de las características del huésped, de dos importantes propiedades de estos fármacos, como es la actividad antimicrobiana y las características fisicoquímicas y farmacocinéticas⁷⁷.

La farmacocinética es la ciencia que estudia la secuencia de acontecimientos que suceden desde el momento de su administración. Por tanto, comprende el conocimiento de la absorción, distribución y eliminación⁷⁸.

La eficacia clínica de un antimicrobiano se logrará en su totalidad cuando el fármaco alcance el lugar de la infección, con una apropiada concentración, superior a la bactericida o inhibitoria mínimas⁷⁹, permaneciendo en él durante un período suficiente.

Los primeros objetivos con la utilización de un antimicrobiano van a ser que acceda

al lugar de la infección con una adecuada concentración y que permanezca en él durante un período suficiente.

Con relación a la distribución del fármaco tendremos presente que el líquido extracelular sólo difunde la fracción libre del antimicrobiano (la no unida a proteínas). Ésta es la considerada efectiva si supera la CMI, pues sólo el fármaco libre posee acción antimicrobiana^{80, 81}.

La concentración de proteínas en los tejidos tendrá una gran significación. Si un fármaco tiene una escasa afinidad proteica, la cantidad que permanecerá libre será similar en todos los tejidos, sin depender de las proteínas que posea.

La penetración intracelular a partir del espacio intersticial solamente la llevará a cabo el antimicrobiano libre con alto grado de liposolubilidad. Determinados fármacos son transportados al interior de las células por un mecanismo activo, pero éste no influye en el volumen de distribución⁸². Los aminoglicósidos se pueden introducir en las células tubulares proximales por transporte activo, induciendo rápidamente toxicidad renal⁸³.

Una vez que el antimicrobiano ha llegado al lugar de la infección y se pone en contacto con los microorganismos responsables de la infección, se inicia la actividad farmacodinámica⁸⁴.

Los cocos grampositivos carecen de membrana externa. El peptidoglicano se reconoce por fuera de la membrana citoplasmática y los patógenos suelen poseer cápsula. Por ello, tanto los betalactámicos o los aminoglicósidos como las quinolonas pueden penetrar fácilmente hasta la membrana^{77, 85}. Aquí tienen los betalactámicos sus dianas (PBP), actuando en fase de crecimiento exponencial. Sin embargo, los aminoglicósidos y las quinolonas han de llegar al interior del citoplasma, por lo que pueden necesitar un mecanismo de transporte activo.

Los bacilos gramnegativos poseen una membrana externa de naturaleza lipopolisacárida, en la que los fármacos liposolubles deberán disolverse para su penetración o tendrán que internarse por los poros de contenido acuoso.

Por lo cual, al elegir un antimicrobiano como tratamiento de cualquier infección, debemos conocer las propiedades farmacocinéticas y la capacidad de acceder y actuar sobre las dianas específicas bacterianas que conducirán a su inhibición o muerte.

2. ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA

El estudio «in vitro» del antimicrobiano nos ayudará a conocer su posible efectividad «in vivo». Entre los procedimientos de laboratorio, para un correcto tratamiento, nos interesa conocer diferentes datos, como la concentración antibacteriana mínima capaz de inhibir la multiplicación bacteriana (CMI) o de desarrollar una acción bactericida (CMB). Los betalactámicos, aunque son bactericidas, no son tan activos ni tan rápidos (menos imipenem) como los aminoglicósidos o las quinolonas.

Los principales datos implicados en la predicción del pronóstico del tratamiento serán la relación entre la concentración máxima alcanzada y la CMI y CMB, así como la acertada utilización de otros parámetros, como es el efecto postantibiótico (EPA).

El EPA es definido en 1977 por McDonald, Craig y Kunin como la supresión del crecimiento bacteriano durante algún tiempo después de una limitada exposición de la bacteria a un determinado antimicrobiano^{86, 87}. Aunque el mecanismo de producción no está perfectamente aclarado, las dos explicaciones más aceptadas se refieren a la persistencia del fármaco en la diana celular y a la inducción de una lesión bacteriana sin efecto

letal⁸⁸. La duración del EPA suele tener relación con la concentración y con el tiempo de exposición previas⁸⁹ al antimicrobiano. Los inhibidores de la síntesis proteica (amino-glucósidos), de la RNA polimerasa (rifampicina) y de la DNA-girasa (quinolonas) poseen el EPA más prolongado. Los antimicrobianos betalactámicos producen un EPA menos significativo, siendo imperceptible en gramnegativos, menos con el imipenem. Es importante reseñar cómo el EPA no debe ser extrapolado entre especies bacterianas, e incluso puede depender de la cepa dentro de una misma especie⁹⁰.

Un nuevo efecto se ha descrito: es el postantibiótico sub-CMI. El EPA de varios antimicrobianos puede prolongarse cuando se continúa de otra exposición a concentraciones subinhibitorias de un mismo fármaco. El significado clínico de este fenómeno parece importante, si consideramos que los niveles máximos de los antibióticos se siguen de otros, muchas veces por debajo de la CMI.

Los factores que afectan al EPA son los relacionados con el microorganismo: los relacionados con el antimicrobiano y con las condiciones experimentales. Con relación al primero, entre las variables que más influyen incluiría el inóculo inicial y la fase de crecimiento bacteriano en el momento del tratamiento. Los estudios del EPA se realizan normalmente con microorganismos en fase de crecimiento logarítmico.

Los factores relacionados con el antimicrobiano son diversos, como el tipo de microorganismo. Los microorganismos grampositivos presentan EPA con casi todos los antimicrobianos probados^{91, 92}, existiendo diferencias entre estos datos y los obtenidos con bacilos gramnegativos. En general, los betalactámicos provocan un retraso en el crecimiento de las bacterias grampositivas^{93, 94}. Los antimicrobianos que inhiben la síntesis de proteínas o de ácidos nucleicos tienden a producir un EPA mucho más prolongado que los betalactámicos. Otro factor es la concentración del antimicrobiano. Eagle fue el

primer investigador que examinó la concentración del antimicrobiano sobre el EPA. Sus estudios con penicilina G y cocos grampositivos demostraron que aparecía EPA solamente cuando se exponía el microorganismo a concentraciones letales⁹⁵. El EPA es medible sólo para las concentraciones iguales o mayores a la CMI. La duración del EPA está relacionada de forma lineal con la concentración del antimicrobiano: aumenta a medida que aumentamos la concentración del antibiótico, pero alcanza un valor máximo a partir del cual el EPA no se incrementa de forma significativa⁹⁶. En todos los antimicrobianos probados se cumple que incrementos de la concentración prolongan el valor del EPA hasta un punto de máxima respuesta observado a concentraciones entre 8 y 16 veces la CMI. Para aminoglicósidos y quinolonas este efecto es difícil de determinar debido a su rápida acción y alto efecto bactericida a elevadas concentraciones^{97, 98}. Por otra parte, los betalactámicos son capaces de producir EPA con bacilos gramnegativos sólo a elevadas concentraciones⁹⁹. El último factor significativo relacionado con el antimicrobiano es la combinación de varios de ellos, pudiendo dar lugar a: 1) *Fenómenos de primera* adición cuando la combinación tiene un efecto similar a la suma matemática de los EPA producidos individualmente. 2) *Sinergismo*, cuando el EPA producido por la combinación de antimicrobianos es, al menos, una hora mayor que la suma del EPA para los antimicrobianos individuales. 3) *Antagonismo*, cuando la combinación produce un EPA al menos de una hora menor que el inducido por los antimicrobianos individualmente. 4) *Indiferente*, cuando la combinación no afecta al EPA individual de los antimicrobianos.

En lo referente a los factores relacionados con las condiciones experimentales, habría que enumerar, entre otras:

- *Tiempo de exposición*. Está descrito por diferentes autores que cuanto más largo sea

éste, más prolongado resultará el retraso en el crecimiento del microorganismo, es decir, se alarga el EPA¹⁰⁰. Este incremento debe estar relacionado con la posibilidad de producir una excesiva muerte bacteriana.

- *Agitación mecánica.* Aunque pocos estudios sobre el EPA informan si existió o no agitación mecánica, otros trabajos muestran que el retraso en el crecimiento de *E. coli* inducido por ampicilina es de 1,4 horas en condiciones estacionarias y de 0,6 horas con agitación mecánica¹⁰¹.

También influirá el tipo de:

- *Medio de cultivo.* Algunos trabajos¹⁰² demuestran esto. Se confirmó cómo la presencia de plasma en el medio provoca una reducción del 90% del tiempo del EPA.

- *pH del medio.* Éste tiene un efecto negativo sobre la actividad bactericida o bacteriostática de los aminoglicósidos, fluorquinolonas y macrólidos, producido por la ionización de estos antimicrobianos, que dificulta la entrada al interior de la bacteria a través de su membrana¹⁰³. Por último, también influye la:

- *Técnica de eliminación del antimicrobiano.* La más empleada es el lavado de los microorganismos^{91, 100, 104} con medio libre de antimicrobiano y centrifugación a 1.200 x G durante 5-10 minutos; el sobrenadante es eliminado y el precipitado bacteriano es suspendido en un medio sin antibiótico. Otro método empleado para eliminar el antimicrobiano es su inactivación; es un método mucho más rápido que el lavado, pero queda limitado a los antimicrobianos betalactámicos^{105, 106}: añadiendo betalactamasas es posible inactivar penicilinas y cefalosporina. Gránulos de celulosa-fosfato fijan e inactivan los aminoglicósidos, pero también requieren una centrifugación para separarlos de los microorganismos¹⁰⁷.

Con relación a los métodos de cuantificar el EPA, normalmente la cinética de crecimiento bacteriano se mide por recuentos de unidades formadoras de colonias (UFC).

Sin embargo, las curvas de crecimiento que siguen las bacterias preexpuestas a un antimicrobiano no siempre reflejan un período de latencia, seguido de un brusco crecimiento logarítmico. Con frecuencia se observa un incremento gradual en el recuento de UFC hasta que se alcanza el crecimiento normal. Ocasionalmente puede suceder que haya un descenso en el número de microorganismos antes de que se llegue a la fase estacionaria. Algunas de estas condiciones pueden reflejar simplemente errores o variabilidad en las diluciones para hacer la siembra a las distintas horas.

Por otra parte, Wilson y Rolinson⁹⁶ han demostrado que las curvas de crecimiento tan sólo reflejan una media en el comportamiento del cultivo en global, ya que es posible encontrar variaciones individuales en el período de recuperación que oscila entre 20 min/3 horas. Se ha desarrollado una ecuación para poder comparar unos trabajos con otros:

$$EPA = T - C$$

T: representa el tiempo en horas requerido para que el número de UFC de las bacterias preexpuestas al antimicrobiano aumente 1 log en base 10, sobre el recuento observado inmediatamente después de la eliminación del antibiótico del medio.

C: refleja lo mismo que T, pero para las bacterias control, es decir, el tiempo requerido para que el recuento de UFC en el cultivo control no tratado se incremente en 1 log₁₀ sobre el recuento observado inmediatamente después de contemplar el mismo procedimiento usado en los cultivos en que se quitó el antimicrobiano.

T-C: es el intervalo de tiempo durante el cual el antimicrobiano parece afectar al crecimiento bacteriano después de la exposición.

Se escogió el valor de incremento de 1 log₁₀ porque por encima de esta cifra el crecimiento entre bacterias control y bacterias pretratadas es idéntico. Existen otras técnicas para poder cuantificar el EPA:

a) *Métodos ópticos o eléctricos*: Baquero y cols.¹⁰⁸ y Richards y cols.¹⁰⁹ han monitorizado el crecimiento de las bacterias midiendo los cambios en la conductancia eléctrica del medio de cultivo producidos por metabolitos cargados. Gould y cols.¹¹⁰ han utilizado un analizador del crecimiento Malthus Microbial Growth, que mide de forma continua el valor de la resistencia del medio de cultivo para un total de 128 células; calcula el cambio en la conductancia durante el curso del crecimiento, tomando medidas cada 6 min, y almacena los datos en un microcomputador. El aparato no puede medir un número de microorganismos inferior a 10^4 células/ml, pero se obtienen datos muy fiables.

b) *Medida del ATP*: este método se basa en el contraste bioluminiscente del ATP intracelular bacteriano. Técnicamente se basa en la reacción entre la luciferasa oxigenada y la luciferasa reducida, la cual, en presencia de ATP y magnesio, origina un complejo luciferina-AMP; en presencia de oxígeno, este complejo se disocia, emitiendo una energía luminosa que puede ser medida con diferentes aparatos eléctricos. El ATP procede del interior de las bacterias y se extrae con ácido tricloroacético¹¹¹. Extraído el ATP se añade la luciferina y se procede a medir la luz. La concentración de ATP se refleja en una curva respecto del tiempo.

c) *Métodos espectrofotométricos*: métodos descritos en 1988 por Rescott¹¹². Consisten en medir la turbidez del cultivo bacteriano control y compararla con la turbidez del cultivo de bacterias tratadas con antimicrobianos. Esta técnica suele completarse con el recuento de bacterias viables en UFC/ml.

d) *Definición de EPA por morfología*: Lorian¹¹³ definió arbitrariamente el EPA como el tiempo necesario para que una población de filamentos gramnegativos alcance la proporción de un 10% de filamentos y un 90% de bacilos, lo cual indicaría el final del EPA. Los resultados medidos con esta técnica reflejan la actividad enzimática.

2.1. OTROS EFECTOS

Existen otros efectos relacionados con el EPA, como son el efecto postantibiótico de la mejora de la actividad leucocitaria (PALE) y el efecto refractario.

El PALE describe las modificaciones de la fagocitosis y/o la destrucción intracelular de las bacterias que previamente han sido expuestas a un antimicrobiano. McDonald y Pruul^{114, 115} demostraron que los microorganismos en fase postantibiótica son más sensibles a la actividad antibacteriana de los leucocitos humanos y denominaron a este fenómeno como Postantibiotic Leukocyte Enhancement o PALE. La existencia de este fenómeno ha sido ensayada «in vitro» con diversos microorganismos y distintos fármacos a diferentes concentraciones^{116, 117}. Se ha determinado que los antibióticos que inhiben la síntesis proteica y ácidos nucleicos inducen un efecto PALE superior a los que afectan a la pared^{114, 118}.

Sobre el efecto refractario existen aún pocos datos estudiados. Parece que los microorganismos durante la fase EPA son menos sensibles a la actividad bactericida de determinados antimicrobianos^{119, 120}. Esta disminución parece ser dependiente del tipo de microorganismos, más en bacilos gramnegativos que en cocos grampositivos, y también del antibiótico, más en betalactámicos y trimetoprim que en aminoglicósidos¹²¹.

El conocimiento del EPA del antimicrobiano frente al microorganismo concreto de la infección nos permitirá un planteamiento más racional en la administración del fármaco. Parece sensato elegir una pauta continua para los antimicrobianos sin EPA, mientras que con EPA de varias horas de duración se podrían espaciar las dosis de una manera más amplia de lo que sugeriría la farmacocinética⁸⁸. Como ocurriría, por ejemplo, con el uso de aminoglicósidos que por su alta capacidad bactericida y poseer EPAs alarga-

dos, han permitido ser utilizados con dosis únicas diarias, obteniendo buenos resultados^{122, 123}. Prins y cols.¹²³, en un ensayo clínico en pacientes no neutropénicos, demostraron un grado de nefrotoxicidad menor en dosis única diaria respecto a la posología fraccionada, mientras que la eficacia fue comparable con ambas posibilidades. En general, coincidieron la eficacia y la toxicidad con las dos formas de administración, pero cuando no fue así, la dosis única diaria de aminoglucósidos demostró una clara superioridad, reduciendo la toxicidad.

3. CARACTERÍSTICAS DE LOS ANTIMICROBIANOS ENSAYADOS

En buena parte del desarrollo de este trabajo intervienen los principales antimicrobianos utilizados en el proceso infeccioso que se estudia, teniendo todos presentación oral y siendo posible su uso ambulatorio. Las propiedades más características de cada uno de ellos se expondrán seguidamente:

3.1. AMOXICILINA-ÁCIDO CLAVULÁNICO

3.1.1. Estructura química

La amoxicilina es la alfa-amino-p-hidroxibencilpenicilina dentro del grupo de los derivados de la ampicilina (aminopenicilinas), siendo muy similar a ésta en cuanto a espectro antibacteriano y nivel de actividad. La amoxicilina se presenta como trihidrato,

sustancia poco soluble en agua, pero sí en tampón fosfato (pH 8), siendo relativamente ácido-estable, mientras que la solución monosódica para inyección es muy hidrosoluble.

El ácido clavulánico posee una estructura similar al núcleo de la penicilina, pero no tiene la cadena acilamino y contiene oxígeno, en lugar de azufre, en la posición 1 (véase figura 1).

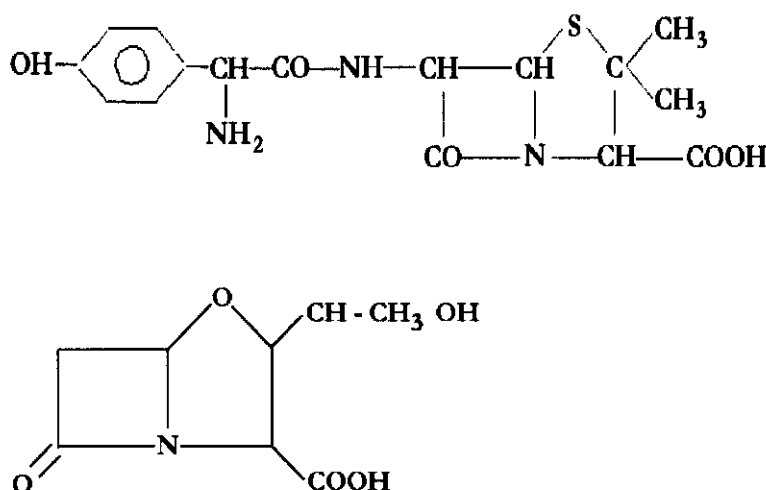


Figura 1

3.1.2. Espectro antibacteriano

Posee un amplio espectro de acción¹²⁴, siendo eficaz frente a *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus coagulasa* negativos, productores de beta-lactamasas y resistentes a metilicina; *Haemophilus influenzae*, *Haemophilus parainfluenzae*, *Branhamella catarrhalis* y *Neisseria gonorrhoeae*, productora de beta-lactamasas; *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Klebsiella oxytoca*, resistente a amoxicilina; *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Salmonella* spp., *Salmonella enteritidis*, *Shigella* spp., *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter yeyuni*, *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio* spp. y *Acinetobacter* spp., Bacteroides del grupo *fragilis* y otros¹²⁴.

3.1.3. Mecanismo de acción

La amoxicilina, como todos los antibióticos betalactámicos, actúa interfiriendo la síntesis de la pared bacteriana. Penetra a través de los poros de la pared bacteriana y se fija a las proteínas fijadoras de penicilina (PBP), situándose a nivel de la cara externa de la membrana citoplasmática e inhibiendo el proceso de síntesis del peptidoglicano relacionado con la morfología del microorganismo y/o a la división celular, destruyendo a la bacteria¹²⁵.

El ácido clavulánico ejerce su acción mediante un mecanismo de inhibición competitiva, progresivo e irreversible^{126,127}. El inhibidor penetra a través de la pared bacteriana, encontrando a la betalactamasa, de gramnegativos, en el espacio periplásmico. Por su propia estructura y su gran afinidad por ellas, es reconocido por éstas interaccionando, lo que origina la inactivación de las betalactamasas.

3.1.4. Resistencias

Algunas cepas de enterobacterias (*E. coli*, *Enterobacter* sp., *Serratia*) y *Pseudomonas* presentan resistencias al producir betalactamasas que no pueden ser inhibidas.

3.1.5. Farmacocinética

La amoxicilina y el ácido clavulánico, en forma de sal potásica, se absorbe por vía oral, no afectándose por la ingesta de alimentos. Alcanza en suero picos de 3,49 mcg/ml y 5,64 mcg/ml tras una hora de la toma de 625 mg y 1.250 mg, respectivamente. La se-

mivida sérica es de 78 minutos para la amoxicilina y 59 minutos para el ácido clavulánico. La unión a proteínas plasmáticas es baja, con valores de 17% para la amoxicilina y 20% para el ácido clavulánico. Presenta buena distribución por los tejidos, alcanzando concentraciones eficaces en líquido peritoneal, líquido pleural, pus y tejidos renales¹²⁸. No penetra en LCR sin inflamación meníngea, atraviesa la placenta, pero no se elimina por la leche materna.

3.1.6. Efectos secundarios

Náuseas. Vómitos. Diarrea. Exantema macular¹²⁹.

3.1.7. Indicaciones

La combinación de amoxicilina y ácido clavulánico aumenta el espectro de amoxicilina a cepas productoras de betalactamasas (*Staphylococcus*, *Haemophilus*, gonococo, *E. coli*, *Klebsiella* y *Bacteroides fragilis*), siendo, por tanto, eficaz en el tratamiento de infecciones urinarias por bacterias resistentes a amoxicilina, infecciones de la piel por *Staphylococcus aureus* y otitis por *Haemophilus*.

3.2. CEFUROXIMA-AXETILO

Es el profármaco oral de la cefuroxima, cefalosporina de segunda generación de amplio espectro con acción bactericida.

3.2.1. Estructura química

Es el 1-acetoxietil (6R, 7R) -3-carbamoilximetil-7 [(Z) -2- metoxiimino-2 (fur-2-il) acetamidol]. Es decir, un éster de cefuroxima (véase figura 2).

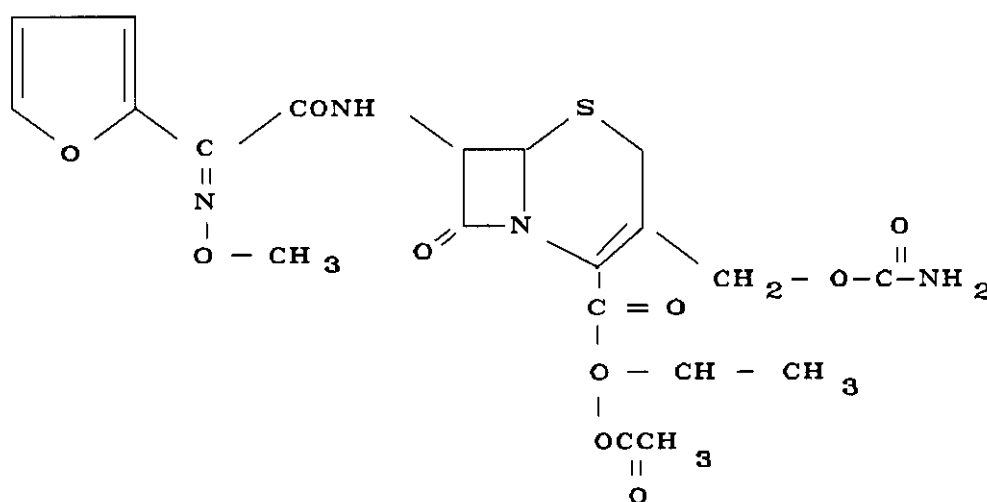


Figura 2

3.2.2. Espectro antibacteriano

El espectro antibacteriano de cefuroxima-axetilo corresponde al de cefuroxima, de la que es su profármaco, y permanece estable frente a betalactamasas.

Cepas normalmente sensibles: estafilococos sensibles o resistentes a la penicilina, excluyendo cepas meticilin-resistentes, estreptococos, pero excluyendo asimismo los del grupo D, *Streptococcus pneumoniae*, *Corynebacterias*, *Clostridium* y también *Clostridium difficile*, *Haemophilus influenzae*, *Haemophilus parainfluenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Proteus mirabilis*, *Providencia*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp., meningococo y gonococo¹³⁰.

3.2.3. Mecanismo de acción

Su acción bactericida resulta de la inhibición de la síntesis de la pared celular por unión a proteínas esenciales específicas localizadas en la membrana celular bacteriana.

3.2.4. Farmacocinética

Absorción: Después de su administración oral, es absorbida en el tracto gastrointestinal e hidrolizada rápidamente por esterases no específicas de la mucosa intestinal y de la sangre, liberándose cefuroxima a la circulación.

Los niveles séricos máximos (2-3 mg/l con una dosis de 125 mg, 4-6 mg/l con una dosis de 250 mg y de 5-8 mg/l con una dosis de 500 mg) se producen aproximadamente de dos a tres horas después de la administración oral cuando se toma tras las comidas. La semivida sérica es de una a dos horas. La unión a proteínas séricas de cefuroxima es del 33-50%¹³¹.

Eliminación: No se metaboliza y se excreta inalterada por filtración glomerular y secreción tubular. La administración simultánea de probenecid aumenta en un 50% el área bajo la curva media de concentración sérica/tiempo¹³².

3.2.5. Efectos secundarios

La mayoría de los efectos secundarios descritos han sido leves y de naturaleza transitoria:

Gastrointestinales: diarrea, náuseas y vómitos. Alérgicos: fiebre, prurito, urticaria, erupción máculo-papular.

Se ha observado alguna vez eosinofilia y aumentos transitorios de los enzimas hepáticos.

Nefrotoxicidad, especialmente con la administración simultánea de aminoglicósidos y diuréticos potentes¹³³.

3.2.6. Contraindicaciones

Alergia a las cefalosporinas o cefamicinas.

3.2.7. Interacciones

Los diuréticos potentes aumentan el riesgo de nefrotoxicidad de las cefalosporinas.

La ingesta de alimentos mejora su absorción.

3.3. FOSFOMICINA

3.3.1. Aspectos generales

Antibiótico natural de estructura espoxídica, con actividad primariamente bactericida, de amplio espectro y buena tolerancia.

3.3.2. Estructura química

Es una molécula muy simple y pequeña. Derivada del ácido propiónico [Ácido (-) (1R2S)- 1, 2-epoxipropilfosónico] (véase figura 3), cuya fórmula responde a la de un epóxido, con una peculiaridad química no observada habitualmente en los compuestos fosforados orgánicos: la unión directa entre el carbono y el fósforo sin puente intermedio de oxígeno¹³⁴.

Sustituyendo los dos átomos de hidrógeno del radical fosfórico por dos de sodio o uno de calcio se obtienen las sales disódica o cálcica, que constituyen las presentaciones parenteral y oral, respectivamente. Otra forma de presentación es asociada a la sal Tro-metamol (mono (2-amonio-2-hidroximetil-1,3-propanodiol) (2R-cis)-(3-metil-oxiranil) (fosfonato).

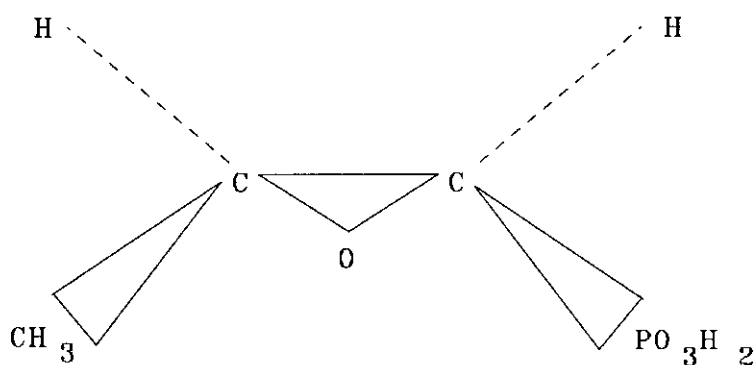


Figura 3

3.3.3. Mecanismo de acción

Actúa inhibiendo la síntesis de la pared celular bacteriana, ejerciendo su acción en la primera etapa de la biosíntesis del peptidoglicano al competir, por analogía estructural, con el fosfoenolpiruvato, por la enzima N-acetilglucosamina 3-6 enolpiruviltransfe-

rasa. La fosfomicina penetra en la célula bacteriana transportada por las mismas permeasas. Su acción es de tipo bactericida y actúa sobre células bacterianas sensibles en fase de crecimiento¹³⁵.

3.3.4. Espectro antibacteriano

Antibiótico de amplio espectro, con mayor actividad frente a bacterias grampositivas que gramnegativas. Entre los grampositivos (*Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*, incluso meticilin-resistentes; *Streptococcus* sp., meningococo y gonococo). Activo frente a las infecciones producidas por bacterias gramnegativas (*E. coli*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Haemophilus*, *Campylobacter*, *Yersinia*, etc.). Por lo que respecta a las bacterias anaerobias, se muestra activa frente a la mayoría de las cepas de *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Veillonella*, *Sarcina*, *Fusobacterium*, *Clostridium*, *Actinomyces*, e inactiva frente a *Bacteroides*¹³⁶.

3.3.5. Farmacocinética

Absorción. Por vía oral la fosfomicina (sal cálcica) no es inactivada por el jugo gástrico y tiene una absorción incompleta con una biodisponibilidad del 30-40% de la dosis administrada. Dicha absorción tiene lugar a lo largo de todo el tubo digestivo, se produce fundamentalmente en el duodeno y no interfiere con la presencia de alimentos; comienza durante los 30 minutos que siguen a su ingesta y las concentraciones sanguíneas máximas se alcanzan a las dos a cuatro horas, dependiendo de la dosis administrada.

Por vía intramuscular (fosfomicina disódica) tiene una absorción completa y rápida¹³⁷.

La forma asociada al trometamol es mejor absorbida (50-60%) por vía oral, alcanzando concentraciones sanguíneas máximas a las dos horas, cuatro veces superior que con la sal sódica.

Su vida media es de dos horas, no se une a proteínas, no se metaboliza y su volumen de distribución es de 20 litros.

Distribución: Es muy buena, posiblemente debido a su pequeña molécula. Penetra bien en LCR, alcanzando concentraciones de 2-58 mg/l (representan del 20-60% de los niveles séricos). Atraviesa la placenta, encontrándose en líquido amniótico los mismos niveles que en sangre materna.

Se consiguen concentraciones terapéuticas en los líquidos pleural, peritoneal, pericárdico y sinovial, humor acuoso y tejido renal, pulmonar y óseo. En leche materna y bilis los niveles son muy bajos¹³⁸.

Eliminación: Tras la ingestión oral hasta el 40% de la dosis se elimina por heces y otro tanto por orina. Si la administración es parenteral, se excreta exclusivamente por vía renal por filtración glomerular en forma activa (sin que haya secreción ni reabsorción tubular), eliminándose por la orina el 95% de la dosis en 24 horas y alcanzándose concentraciones muy elevadas, con un aclaramiento similar al de la creatinina.

La sal de trometamol por vía oral se elimina en forma bacteriológicamente activa a las 48 horas alrededor del 50%, con dosis de 0,5, 1 y 2 gramos.

3.3.6. Efectos secundarios y reacciones adversas

La administración intramuscular produce dolor en las zonas inyectadas, especialmente en las inyecciones repetidas y, en particular, en la infancia.

Por vía oral, muy raramente se han observado alteraciones gastrointestinales (náuseas, vómitos, pirosis y heces blandas o diarreas, así como irritación anal)¹³⁹.

En pacientes hipersensibles a los antibióticos u otros medicamentos puede aparecer un *rash* cutáneo que suele ceder con antihistamínicos orales, en general sin interrumpir el tratamiento¹⁴⁰.

Otras reacciones descritas excepcionalmente han sido alteraciones de la función hepática, detectando una ligera elevación transitoria de las transaminasas ¹⁴¹. Alteraciones hematológicas: ligeros aumentos de eosinófilos y de plaquetas.

3.3.7. Mecanismos de resistencia

Resistencia natural o cromosómica por alteraciones en el sistema de transporte. Resistencia adquirida, posiblemente localizada en el cromosoma, en virtud de la cual cepas originalmente sensibles adquieren resistencias en el propio enfermo¹⁴².

3.3.8. Indicaciones clínicas

La vía oral está indicada en el tratamiento de infecciones urinarias no complicadas, infecciones intestinales por *E. coli* enteropatógeno, *Salmonella* y *Shigella* e infecciones de tejidos blandos.

La vía parenteral intramuscular o intravenosa, dependiendo de la gravedad en infecciones estafilocócicas por cepas resistentes a meticilina cloxacilina o en pacientes alérgicos a beta-lactámicos. Osteomielitis, meningitis, endocarditis, peritonitis y septicemias por bacterias sensibles¹⁴³.

3.3.9. Contraindicaciones

Ninguna conocida.

Aunque no se ha demostrado una acción teratogena durante el embarazo, la lactancia y la primera infancia.

3.3.10. Interacciones

La administración simultánea con metoclopramida reduce la absorción de fosfomicina.

Puede actuar sinérgicamente con gran número de antibióticos: aminoglicósidos, beta-lactámicos, cloranfenicol, eritromicina y tetraciclina¹⁴⁴.

3.4. TRIMETOPRIM-SULFAMETOXAZOL

3.4.1. Aspectos generales

Son quimioterápicos sintéticos de amplio espectro que ejercen su acción sobre los microorganismos sensibles, como antimetabolitos, por inhibición competitiva, precisando encontrárselos en fase de crecimiento.

3.4.2. Estructura química

Trimetoprima es (2,4-diamino-5- (3,4,5-Trimetoxi-bencil) -Pirimidina base débil, poco hidrosoluble.

El sulfametoxazol derivado de la paraaminobenceno-sulfonamida es el 5-metil-3-sulfanilamido-isoxazol de eliminación lenta o semirretardada (véase figura 4).

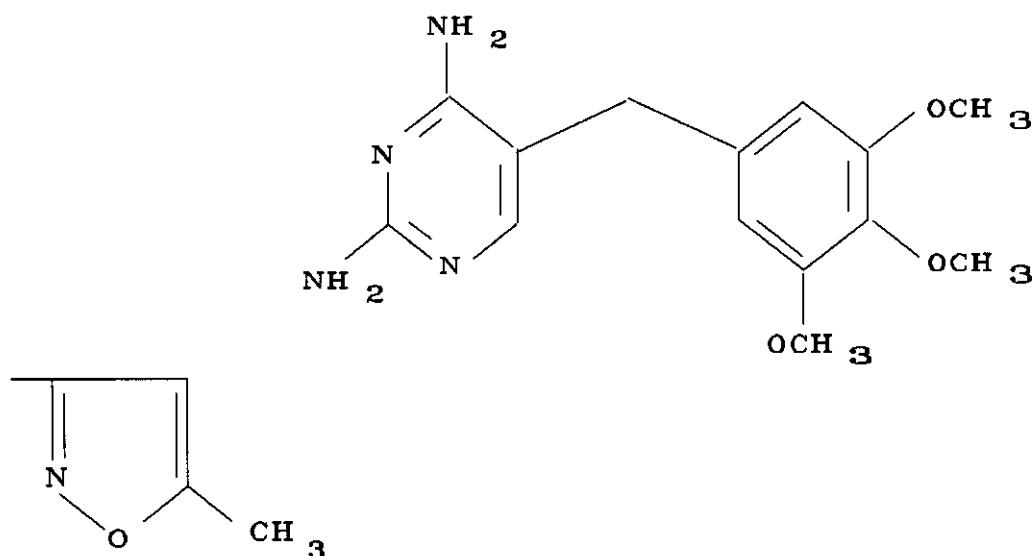


Figura 4

3.4.3. Mecanismo de acción

Inhibición de la síntesis del ácido fólico en dos etapas sucesivas. El sulfametoxazol inhibe la utilización del ácido paraaminobenzoico y el trimetoprim bloquea la reducción del ácido dihidrofólico a tetrahidrofólico.

Ambos compuestos individualmente son bacteriostáticos y su combinación, según algunos autores, produce un efecto bactericida. La actividad de la combinación es superior a la de los componentes individuales. Esta actividad es máxima con las proporciones una parte de trimetoprim y 20 de sulfametoxazol¹⁴⁵.

3.4.4. Espectro de actividad

Es activo frente a *Staphylococcus aureus* y *S. epidermidis* meticilin-resistente, *Moraxella catarrhalis*, *Pseudomonas mallei*, *Ps. cepacia*, *Xanthomonas maltophilia*, *Salmonella typhi*, *Listeria*, *Pneumocystis carinii*, *Brucella* spp., *Chlamydia trachomatis*, *Haemophilus ducreyi*¹⁴⁶.

No es activo frente a anaerobios y enterococos.

3.4.5. Farmacocinética

Absorción: Por vía oral en su práctica totalidad. Los niveles séricos máximos se alcanzan al cabo de una a tres horas y son de 2 mg/l, tras una dosis de 160 mg, tanto por vía oral como intravenosa.

La unión a proteínas es del 45%, y la vida media, de 12 horas.

Distribución: Una vez absorbidos, se difunden bien en los tejidos y fluidos orgánicos, alcanzando concentraciones terapéuticas en riñón, orina, pulmón, hígado, esputos y bilis.

Eliminación: Principalmente por vía renal (70% de la dosis en 24 horas) por filtrado glomerular y secreción tubular. El 8% se excreta como formas conjugadas inactivas. Una pequeña porción se excreta por bilis, y otra pequeña porción se metaboliza.

Las características farmacocinéticas de sulfametoxazol son similares a las de trimetoprim. Ello hace posible que ambos componentes se encuentren en las proporciones adecuadas en el cuerpo humano¹⁴⁷.

3.4.6. Efectos secundarios y reacciones adversas

En tratamientos prolongados se puede producir una depresión de la médula ósea.

Se pueden producir asimismo reacciones alérgicas.

Pueden producirse también trastornos gastrointestinales: náuseas, vómitos, piro-sis, diarrea, estreñimiento, glositis, anorexia, dolores linguales y gastroabdominales¹⁴⁸, vértigos, cefaleas, alucinaciones, ansiedad y depresión.

Se han puesto de manifiesto elevación de las transaminasas y de la fosfatasa alcali-na, creatinina¹⁴⁹.

La infusión intravenosa puede producir dolor local o flebitis.

3.4.7. Mecanismos de resistencia

La resistencia de los microorganismos a las sulfamidas puede deberse a varios me-canismos:

- Antagonización de su efecto antimicrobiano por el ácido para-aminobenzoico, por competencia con las mismas enzimas responsables de la síntesis del ácido fólico¹⁵⁰.
- Disminución de la sensibilidad de estas enzimas a la sulfamida¹⁵¹.
- Impermeabilidad¹⁵¹.
- La resistencia bacteriana a trimetoprim es en todo similar a la descrita para las sulfamidas, con la diferencia de que el efecto antagónico se produce por la timidina y no por el ácido para-aminobenzoico.

3.4.8. Indicaciones clínicas

Infecciones agudas y crónicas del tracto urinario, incluidas pielonefritis, prostatitis y absceso prostático. Bronquitis crónica y sinusitis. Infecciones quirúrgicas y biliares.

Fiebre tifoidea y paratifoidea (infección y portadores)¹⁵². Gastroenteritis.

Es el tratamiento de elección en las neumonías por *Pneumocystis carinii*¹⁵³ y en la profilaxis de inmunodeprimidos¹⁵⁴.

3.4.9. Contraindicaciones

Alergia a sulfamidas, hepatitis e insuficiencia hepática, alteraciones hematológicas, embarazo, neonatos y lactancia. Se debe administrar con precaución en granulocitopenia e insuficiencia renal¹⁵⁵. En los tratamientos prolongados se debe controlar periódicamente la cifra de leucocitos y plaquetas.

3.4.10. Interacciones

El sulfametoxazol puede potenciar la actividad anticoagulante de las cumarinas en pacientes con bajas cifras de albúmina, debiendo controlarse en estos casos la coagulación con regularidad.

3.5. QUINOLONAS: ASPECTOS GENERALES

Las nuevas fluoroquinolonas son derivados de las antiguas quinolonas, a las que se les ha incorporado un anillo piperacínico en posición 7 y átomos de flúor en su molé-

cula con el fin de incrementar su espectro y actividad sobre los microorganismos, tanto grampositivos como gramnegativos.

Presentan mecanismos de acción comunes, con buena farmacocinética y efectos secundarios muy escasos. Comparadas con el ácido nalidíxico, su espectro de actividad es más amplio: cubren indicaciones muy diversas en terapéutica antiinfecciosa, desde infecciones urinarias a procesos sistémicos de variada etiología, profilaxis específica o tratamiento de portadores¹⁵⁶.

Las quinolonas funcionan rápidamente como bactericidas por ejercer sus efectos sobre el ADN a unas concentraciones próximas a las que causan inhibición del crecimiento bacteriano, 1-4 veces la CMI; su actividad «in vitro» se ve reducida por un gran inóculo, un pH ácido menor de 5, y en presencia de orina^{157, 158} y de cationes bivalentes¹⁵⁹.

3.5.1. Estructura química

Las quinolonas son sustancias bicíclicas que tienen en común una estructura central constituida por un anillo 4-oxo-1,4-dihidroquinoleína (4-quinolona), término abreviado para designar a la quinolina sustituida¹⁶⁰. A esta molécula puede incorporarse una serie de radicales y sustituciones que influyen de forma importante en sus características y propiedades^{161, 162}. El radical carboxilo de la posición 3 y el grupo cetónico de la posición 4 son totalmente imprescindibles para ejercer su actividad antibacteriana, ya que son necesarios para la unión a la ADN girasa.

Las diferencias estructurales entre las distintas quinolonas radican tanto en el número y posición de los átomos de nitrógeno como en las cadenas laterales y la presencia

de flúor en su molécula. Las sustituciones en la posición 1 influyen en la afinidad por la ADN girasa y, por tanto, en la actividad antibacteriana general. Las sustituciones en la posición 2 afectan a las propiedades farmacocinéticas. El grupo amino en posición 5 incrementa la actividad «in vitro» y favorece la absorción.

La introducción de un átomo de flúor en posición 6 da lugar a un incremento en la inhibición de la ADN girasa; potencia la penetración en el interior de la bacteria originando una mayor acción antibacteriana sobre microorganismos gramnegativos e incluyendo en su espectro a bacterias grampositivas. Este descubrimiento ha llevado a la búsqueda de nuevas quinolonas que incorporan un segundo átomo halogenado o de nitrógeno en posición 8, y que pueden ser muy útiles por tener una mejor absorción oral. El grupo piperacínico heterocíclico en la posición 7 es el responsable de la penetración y de la posibilidad de administración parenteral (véase figura 5).

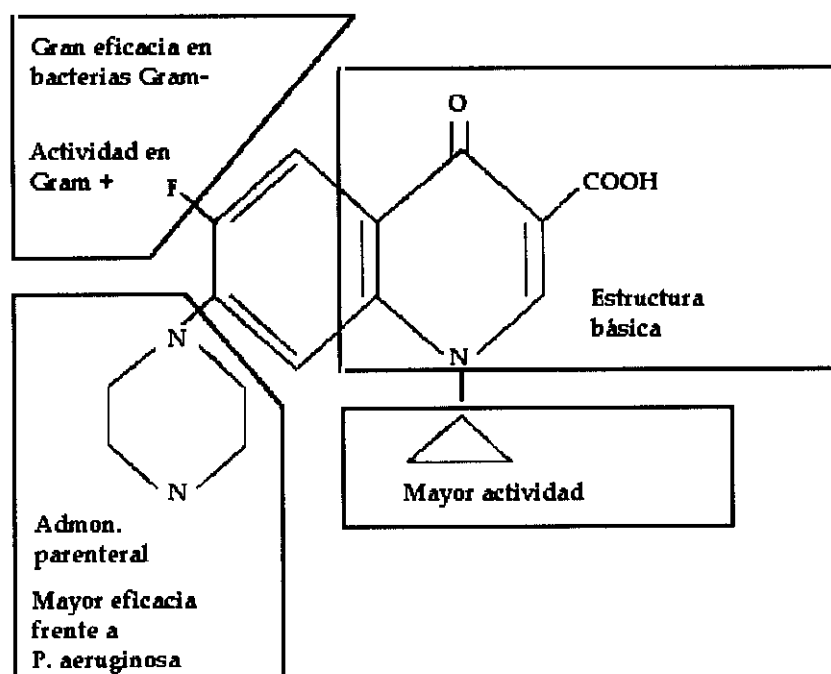


Figura 5

3.5.2. Mecanismo de acción

Desde su origen se ha considerado que las 4-quinolonas actúan sobre la girasa del ADN bacteriano^{163, 164}. No obstante, en los últimos años ha habido algunas aportaciones que sugieren la existencia de mecanismos adicionales que también podrían ser responsables de la acción antibacteriana de este grupo de fármacos. Además, continúa sin conocerse con exactitud el mecanismo molecular de dicha acción, así como los fundamentos por los que estos antimicrobianos tienen un efecto bactericida y por los que unos son más bactericidas que otros.

3.5.3. Otros probables mecanismos de acción

Se han sugerido otras posibles formas de actuación de las quinolonas¹⁶⁵:

Mecanismo A: Común a todas las quinolonas y bloqueado por rifampicina y cloranfenicol. Es un mecanismo dependiente de la división celular y de la síntesis de ARN y proteínas.

Mecanismo B: Lo presentan solamente algunas quinolonas, como ciprofloxacino, ofloxacino¹⁶⁵, fleroxacino y pefloxacino¹¹⁶; no es inhibido por rifampicina y cloranfenicol, no necesita de las proteínas bacterianas ni de la síntesis del ARN y es independiente de la división celular.

Mecanismo C: Encontrado en norfloxacino y enoxacino¹⁶⁶, es independiente de la división celular, pero inhibido por rifampicina y cloranfenicol.

3.5.4. Espectro de actividad

Las fluorquinolonas, en general, se caracterizan por su amplio espectro, que abarca bacterias gramnegativas y grampositivas, aunque con mayor actividad frente a antero-bacterias. *Pseudomonas aeruginosa* es moderadamente sensible; *Legionella* spp., *H. influenzae*, *M. catarrhalis*, *N. gonorrhoeae*, *N. meningitidis*, *C. trachomatis* y *Brucella* spp. presentan también una sensibilidad moderada.

Tienen aceptable acción frente a *S. aureus* y *S. epidermidis*, sensibles y resistentes a meticilina. Su actividad no es tan buena sobre algunas especies del género *Streptococcus*. Los anaerobios son resistentes en general¹⁶⁷.

En relación con las micobacterias, algunas quinolonas son eficaces sobre *Mycobacterium tuberculosis*, *M. kansasii* y *M. xenopi*, si bien esta acción está notablemente reducida frente a micobacterias atípicas¹⁶⁸.

3.5.5. Farmacocinética

Las quinolonas presentan características farmacocinéticas muy similares entre sí, destacando su buena calidad de absorción en el tracto gastrointestinal tras una dosificación por vía oral, una distribución tisular excelente y baja incidencia de reacciones adversas.

Absorción: El tiempo de absorción oscila entre una a tres horas después de la toma de una dosis oral, siendo la proporción absorbida a partir de una dosis oral (biodisponibilidad) de alrededor de un 80%. La cinética de absorción no se altera por la administración conjunta de alimentos, aunque puede retrasarse ligeramente el tiempo de absorción. Se reduce la absorción cuando se administra conjuntamente con preparaciones que

contienen magnesio, aluminio, cinc o sales de hierro por la formación de un quelato insoluble a nivel intestinal^{169, 170}.

Distribución: En general^{171, 172}, todas las quinolonas se unen a proteínas plasmáticas en un bajo porcentaje, 15-40%, independientemente de las concentraciones totales plasmáticas, siendo la difusión y penetración hísticas amplias; alcanzan altas concentraciones en los tejidos periféricos y fluidos orgánicos (líquido prostático, bilis, saliva, líquido cefalorraquídeo, secreción bronquial) y su volumen de distribución oscila entre uno y tres litros por kilogramo. Difunden bien en los exudados inflamatorios¹⁷³, así como en líquido amniótico y leche materna¹⁷⁴, con una elevada penetración tanto en macrófagos como en polimorfonucleares. Esto les permite actuar en infecciones intracelulares.

Eliminación: La principal vía de eliminación es el riñón (30-60%), tanto por filtración glomerular como por secreción tubular activa, y, en menor proporción, por tracto gastrointestinal, aunque hay variaciones según la quinolona. El porcentaje de la dosis administrada que se recupera en la orina como compuesto original inmodificado es variable, al igual que la proporción metabolizada a nivel hepático. Buena parte de estos catabolitos es eliminada también por vía renal como compuestos activos. La vida media de eliminación puede oscilar entre cuatro y catorce horas.

3.5.6. Efectos secundarios y reacciones adversas

Generalmente afectan al aparato digestivo y consisten fundamentalmente en molestias epigástricas, náuseas, vómitos y diarreas; los cambios cualitativos y cuantitativos de la flora intestinal son mínimos y de corta duración (inferior a dos semanas). Con relación al sistema nervioso central se han descrito temblores, vértigos, agitación, psicosis,

convulsiones, insomnios, somnolencias y cefaleas¹⁷⁵. En piel se ha observado prurito, exantema cutáneo y, en algunos casos, reacciones de fotosensibilidad; en el aparato locomotor, artralgias, artromialgias, tenosinovitis y, raramente, artritis. Efectos hematológicos descritos son eosinofilia, leucopenia y trombocitopenia. Las fluorquinolonas causan también elevaciones transitorias y asintomáticas de las enzimas hepáticas, particularmente en pacientes con lesión hepática previa, y, raramente, cristaluria, sobre todo en orinas alcalinas, y nefrotoxicidad¹⁷⁶.

Pueden ser consideradas sustancias relativamente seguras. La frecuencia y gravedad de las reacciones adversas medicamentosas (RAM) producidas depende fundamentalmente de tres aspectos: duración del tratamiento, edad del paciente y posología. A medida que se alarga el tratamiento por encima de dos semanas y que la edad del paciente es más avanzada, puede aumentar la incidencia de los efectos adversos.

En condiciones terapéuticas normales no se les conoce toxicidad alguna que amenace la vida de un órgano en especial, lo que limitaría esencialmente su uso.

3.5.7. Mecanismos de resistencia

La aparición de resistencia es relativamente fácil de observar en el laboratorio por pase seriado; sin embargo, en el curso de los tratamientos con fluoroquinolonas es poco habitual¹⁷⁷.

Se han descrito casos de resistencia a las quinolonas por su uso frecuente en tratamientos de larga duración, principalmente debidas a mutaciones adquiridas de naturaleza cromosómica. La frecuencia de mutación es mayor para las quinolonas no fluoradas: la frecuencia de mutación para el ácido nalidíxico es de 10^{-7} , mientras que para las quinolonas fluoradas es de 10^{-9} - 10^{-10} en la mayor parte de las especies bacterianas. Las

mutaciones responsables de resistencia de *P. aeruginosa* a fluorquinolonas se presentan con mayor frecuencia¹⁷⁸.

Las mutaciones en el cromosoma bacteriano responsables de la resistencia adquirida a las fluorquinolonas pueden ser de dos clases:

- 1.^a Mutaciones que afectan a la ADN-girasa.
- 2.^a Mutaciones que disminuyen la permeabilidad bacteriana.

1.^a Mutaciones que afectan a la ADN-girasa

En *E. coli* las mutaciones más importantes se producen en el gen *gyr A*, que codifica para la subunidad A de la girasa¹⁷⁹. Solamente codifican resistencia a las quinolonas; es decir, no originan resistencia cruzada con otros antimicrobianos.

También se han encontrado mutaciones para el gen *gyr B*, que codifica para la subunidad B, originando resistencia al ácido nalidíxico y suponiendo cierta resistencia a las nuevas quinolonas¹⁸⁰.

En *P. aeruginosa* también se ha constatado que las mutaciones que afectan al gen *gyr A* son diez veces más frecuentes que las mutaciones que afectan al *gyr B*¹⁸¹.

2.^a Mutaciones que afectan a la permeabilidad

Las mutaciones que afectan a la entrada a la célula de la quinolona se han estudiado fundamentalmente en *E. coli*. Originan alteraciones del LPS¹⁸².

Otro tipo de alteración que supone una pérdida de sensibilidad es la mutación en el gen Omp F, que codifica para la proteína porínica F, hecho que se ha comprobado tanto en *E. coli* como en *P. aeruginosa*¹⁸³.

3.5.8. Indicaciones clínicas

Vendrán determinadas por las características microbiológicas y farmacológicas de cada una de ellas y por la experiencia clínica acumulada, siendo su utilidad práctica muy amplia debido a las siguientes propiedades:

- Marcado efecto antibacteriano y amplio espectro.
- Buena absorción por vía oral.
- Vida media prolongada, que permite esquemas de dosificación muy cómodos para una administración cada 12 o 24 horas.
- Buena distribución en los diversos compartimentos orgánicos (el volumen de distribución se aproxima al volumen total del cuerpo), que le permiten alcanzar concentraciones eficaces en la mayor parte de los tejidos que habitualmente son afectados por procesos infecciosos.
- Capacidad de alcanzar concentraciones del antimicrobiano en la orina que exceden marcadamente las CMI de todos los patógenos bacterianos.

Suelen administrarse para tratar infecciones urinarias¹⁸⁴ agudas y complicadas producidas por enterobacterias resistentes a otros antimicrobianos; también *Pseudomonas* y *Enterococcus*, cistitis de repetición, pielonefritis aguda y crónica, bacteriemia de origen urinario, prostatitis agudas y crónicas.

Se recomienda en infecciones entéricas por enteropatógenos capaces de causar

gastroenteritis; se han mostrado efectivos frente a infecciones causadas por *Salmonella* y *Shigella* multirresistentes^{185, 186}, así como en la infección intestinal no invasiva¹⁸⁷ con tratamiento de portadores de *Salmonella typhi*^{188, 189}, en prevención de la «diarrea del viajero».

Pueden prescribirse para tratar infecciones respiratorias¹⁹⁰ de origen comunitario causadas por gramnegativos, neumonías intrahospitalarias y extrahospitalarias, sobreinfecciones por *Haemophilus* o bacilos gramnegativos en bronquitis crónica, bronquiectasias y fibrosis quística infectada por *Pseudomonas*.

Igualmente son útiles en las infecciones otorrinolaringológicas agudas y crónicas del adulto causadas por bacilos gramnegativos, otitis agudas y crónicas, así como en otitis maligna del anciano y del diabético.

En infecciones osteoarticulares, artritis, osteomielitis agudas y crónicas, en especial por gramnegativos^{191, 192}, han demostrado ser también eficaces.

Las infecciones piógenas del hígado y vías biliares: colecistitis, colangitis¹⁹³, son muy bien tratadas, al igual que las infecciones del sistema nervioso central, por su facilidad para atravesar la barrera hemato-encefálica^{194, 195}, producidas por microorganismos de difícil tratamiento y a veces multirresistentes¹⁹⁶.

Las infecciones de piel y tejidos blandos causadas por gramnegativos: celulitis, erisipela, úlceras, abscesos, quemaduras infectadas^{197, 198}; las infecciones ginecológicas debidas a bacilos gramnegativos y las infecciones de transmisión sexual, gonocócicas y no gonocócicas, con gran eficacia frente a *Chlamydia trachomatis*^{199, 200}, son de la misma manera muy bien erradicadas con estos fármacos.

Por último, resultan especialmente útiles en la prevención y profilaxis en pacientes neutropénicos^{201, 202}.

3.5.9. Contraindicaciones

Están contraindicadas en los siguientes casos:

- Hipersensibilidad a las quinolonas, situación poco frecuente.
- Embarazo y período de lactancia, hasta que se disponga de más experiencia, aunque no se han observado efectos teratogénicos en modelos experimentales.
- Niños y adolescentes en período de crecimiento, dado que no es posible excluir con absoluta seguridad la producción de lesiones en los cartílagos articulares del tipo de las observadas en los animales de experimentación^{203, 204}.

3.5.10. Interacciones

Existen diversos mecanismos que pueden llevar a la interacción entre los agentes antimicrobianos y otras drogas, especialmente después de una administración por vía oral.

En estos últimos años se han descrito múltiples interacciones entre las quinolonas y otros compuestos. Estos efectos incluyen: interacciones «in vitro» durante el período de prueba de la actividad antimicrobiana, interacciones en la fase de absorción, interacciones que afectan la excreción renal de ciertos derivados, la inhibición del metabolismo hepático de algunas drogas administradas en forma concomitante.

Los antiácidos pueden reducir la absorción de fluorquinolonas^{205, 206}.

Los bloqueadores H-2 o la ranitidina²⁰⁷ pueden reducir la absorción.

El probenecid bloquea la eliminación renal de las fluoroquinolonas con excepción de pefloxacino, alargando la vida media.

Las quinolonas pueden disminuir el aclaramiento plasmático de teofilina, produciendo un incremento de su vida media y en consecuencia aumentando las RAM producidas por la teofilina^{208, 209}, aunque ocasionalmente se ha descrito con ciprofloxacino²¹⁰ y pefloxacino²¹¹; el ofloxacino no muestra interacción alguna²¹².

No existe interacción farmacocinética entre las quinolonas y los aminoglicósidos y betalactámicos²¹³.

3.6. CIPROFLOXACINO

3.6.1. Estructura química

Es el ácido-1-ciclopropil-6-flúor-1, 4-dihidro-4-oxo-7- (1-piperacínil) -3-quinolein-carboxílico (véase figura 6). La fluoración en posición 6 y el anillo piperacínico en posición 7 han mejorado la actividad de este compuesto; por ejemplo, el radical 1 piperacínico en posición 7 potencia notablemente su actividad frente a *Pseudomonas aeruginosa*²¹².

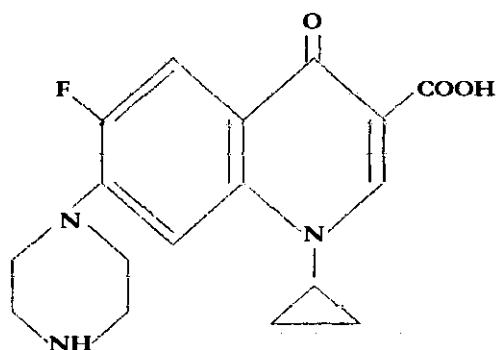


Figura 6

3.6.2. Espectro antibacteriano

Es activa frente a cocos y bacilos gramnegativos y grampositivos y presenta habitualmente CMI entre 0,01 y 2,0 mcg/ml^{181,182}. En numerosos ensayos clínicos el ciprofloxacino administrado por vía oral ha demostrado ser eficaz frente a bacterias sensibles de la piel y tejidos blandos, del oído medio, de los ojos, de los huesos y articulaciones, del tracto gastrointestinal, de las vías biliares, de los órganos genitales y de los tractos urinario y respiratorio. Su acción es predominantemente bactericida tanto sobre bacterias en fase de crecimiento como bacterias en reposo²¹⁴.

3.6.3. Resistencias

Aunque no es muy frecuente, se han descrito resistencias por mutaciones en la ADN-girasa en varias especies, entre las que se incluyen *S. marcescens*, *K. pneumoniae* y más frecuentemente *P. aeruginosa*¹⁸⁴. No se ha observado resistencia cruzada con penicilinas, cefalosporinas, aminoglicósidos y tetraciclinas.

3.6.4. Farmacocinética

Se absorbe (en forma oral) y se distribuye (en forma oral/intravenosa) rápidamente, mostrando una gran capacidad de penetración hística en todo el organismo; la unión a proteínas es del 35%, la máxima concentración sérica es de 2,0 mg/l para una dosis de 500 mg. El tiempo de vida media es de 3-4,5 horas²¹⁵. Se metaboliza, básicamente a un oxoderivado en proporción variable que depende de la vía de administración. Se excreta por orina en un 80-85%, y por heces, el resto.

3.6.5. Efectos secundarios

Puede provocar molestias gastrointestinales leves (5,0%), tales como diarreas y náuseas. En menor medida puede producir alteraciones dérmicas, como sarpullidos y otros trastornos: mareos, cefaleas, astenia, etcétera.

3.7. FLEROXACINO

3.7.1. Estructura química

Es el ácido-6, 8-difluoro-1-(2-fluoroetil)-1, 4-dihidro-7-(4-metil-1-piperazinil)-4-oxo-3-quinolein carboxílico (véase figura 7).

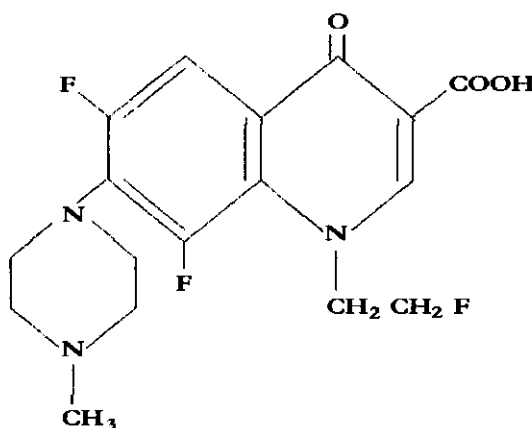


Figura 7

3.7.2. Espectro antibacteriano

Posee gran actividad frente a enterobacterias, *Neisseria* spp. y *Haemophilus influenza* y buena actividad antiestafilocócica, *Pseudomonas aeruginosa* y *Moraxella catarrhalis*. En estos

casos la actividad es comparable a la de norfloxacin, ofloxacin, pefloxacin y enoxacin, pero es algo menor que ciprofloxacino. Es activa frente a ciertas cepas de *P. aeruginosa* gentamicin-resistente y *S. aureus* meticilin-resistente.

3.7.3. Resistencias

Frente a ciertas cepas de *P. aeruginosa* y *S. aureus*. En menor proporción en infecciones por *K. pneumoniae*, *S. marcescens* y *E. coli*.

3.7.4. Farmacocinética

Presenta buena absorción oral y baja unión a proteínas (23%). La concentración sérica máxima para una dosis de 500 mg es de 5,0 mg/l, siendo el tiempo de vida media de diez horas. Se excreta por orina en un 60-70%, como compuesto inalterado, y en un 10%, metabolizado²⁰⁶.

3.7.5. Efectos secundarios

Como en el resto de las fluoquinolonas, producen alteraciones digestivas leves, que en muy pocos casos llevan a abandonar el tratamiento.

3.8. NORFLOXACINO

3.8.1. Estructura química

Es el ácido 1-etil-6-fluoro-1,4-dihidro-7-(1-piperazinil)-4-oxo-3-quinolein-carboxílico (véase figura 8).

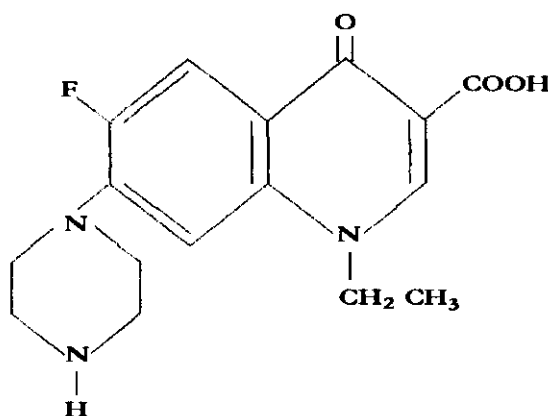


Figura 8

3.8.2. Espectro antibacteriano

Su actividad antibacteriana es similar a la de pefloxacin y inferior a ciprofloxacino y ofloxacino. Activa frente a la práctica totalidad de los patógenos urinarios: enterobacterias, *P. aeruginosa* y cocos grampositivos, incluyendo *Enterococcus* spp. Muy activo frente a *Neisseria gonorrhoeae*, incluidas cepas productoras de betalactamasas. Es muy activa sobre patógenos intestinales: *E. coli*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Yersinia* y *Campylobacter*¹⁸⁶. No tiene, sin embargo, actividad significativa alguna frente a bacterias anaerobias²¹².

3.8.3. Resistencias

Existe una resistencia cruzada sólo parcial con los antiguos inhibidores de la girasa, por lo que las cepas resistentes al ácido nalidíxico siguen siendo moderadamente sensibles a norfloxacin¹⁸².

3.8.4. Farmacocinética

La absorción oral es buena, la unión a proteínas es de un 15% y la concentración máxima en suero para una dosis de 500 mg es de 2,0 mg/l. El tiempo de vida media es de 3-4,5 horas. Se excreta por orina y heces, en parte como compuesto original y en parte metabolizado²¹⁶.

3.8.5. Efectos secundarios

Suelen ser de tipo digestivo: molestias gástricas, náuseas, vómitos y diarrea. En ocasiones pueden presentarse reacciones cutáneas de hipersensibilidad.

3.9. OFLOXACINO

3.9.1. Estructura química

Compuesto tricíclico en el que la oxacina está unida al anillo quinoleínico. Ácido 9-fluoro-2, 3-dihidro-3-metil-10- (4-metil-1-piperazinil) -7-oxo-7H-pirido- (1,2,3-de) (1,4) benzoxacino-6-carboxílico (véase figura 9).

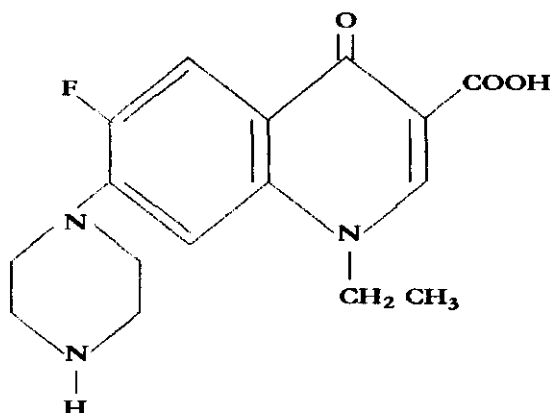


Figura 9

3.9.2. Espectro antibacteriano

Tiene el efecto bactericida más rápido de todas las nuevas quinoleínas, frente a microorganismos sensibles, coincidiendo prácticamente sus CMI con las CMB. Su amplio espectro de actividad comprende a bacilos gramnegativos, muchas bacterias grampositivas y algunos anaerobios.

Entre los gramnegativos tiene excelente actividad frente a enterobacterias, menor actividad contra bacilos no fermentadores. Entre los grampositivos, buena actividad «in vitro» contra estafilococos y una actividad media contra estreptococos y enterococos.

En general, no es tan activo contra grampositivos como frente a gramnegativos²¹⁷.

3.9.3. Resistencias

No tiene resistencia cruzada con el ácido nalidíxico, aminoglicósidos ni betalactámicos. Se ha desarrollado resistencia en muchos patógenos, pero especialmente en *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* y *E. cloacae*.

3.9.4. Farmacocinética

No se metaboliza y tiene una larga vida media (6-7 h), lo que le permite mantener niveles terapéuticos de 12 a 24 horas. La unión a proteínas es de un 30%. La concentración sérica máxima es de 8,5 mg/l para una dosis de 500 mg. La mayor parte se excreta por vía urinaria, como compuesto inalterado.

3.9.5. Efectos secundarios

Trastornos gastrointestinales, tales como molestias gástricas, dolores abdominales, pérdida del apetito, náuseas, vómitos y diarrea. Ocasionalmente, cefaleas, vértigos y alteraciones del sueño.

3.10. PEFLOXACINO

3.10.1. Estructura química

Es el ácido 1-etil-6-fluoro-1,4-dihidro-7-(4-metil-1-piperazinil) -4-oxo-3-quinolon-carboxílico (véase figura 10).

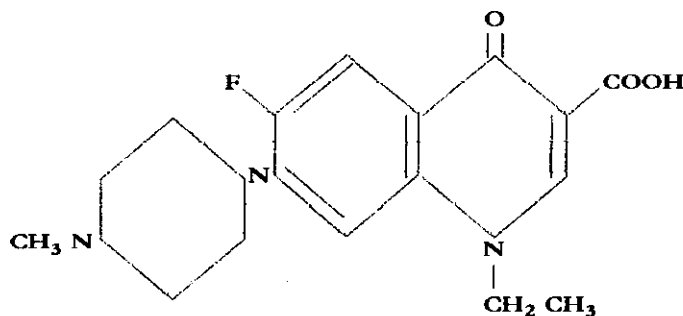


Figura 10

3.10.2. Espectro antibacteriano

Es activo frente a enterobacterias: *Pseudomonas* spp., *E. faecalis*, y cierta actividad frente a *S. aureus* y *S. epidermidis*, algunos anaerobios, así como frente a *Legionella* spp. Lo es menos sobre bacterias productoras de infecciones de transmisión sexual.

3.10.3. Resistencias

La tasa de mutación espontánea hacia la resistencia para la mayoría de las especies bacterianas es baja (10^{-8}). Aunque hay un cierto grado de resistencia cruzada con las antiguas quinolonas, pefloxacino sigue siendo activo sobre cepas resistentes a ácido nalidíxico y oxolínico²¹⁸.

3.10.4. Farmacocinética

La unión a proteínas es muy baja: un 25%. La concentración sérica tras una dosis de 500 mg es de 7,5 mg/l. Tiene una vida media de 10-14 horas¹⁸⁸; la más prolongada de todas las quinolonas. Se elimina principalmente por metabolización hepática²¹⁹.

3.10.5. Efectos secundarios

Molestias gastrointestinales, raramente fotosensibilidad y reacciones de tipo alérgico, alteraciones del SNA y dolores musculares.

4. FACTORES A CONSIDERAR EN EL TRATAMIENTO DE ITUs

A la hora de instaurar un tratamiento en Patología infecciosa en general y en ITUs en particular, es necesario considerar diferentes factores, que seguidamente vamos a enumerar y posteriormente a desarrollar:

1. Actividad antibiótica en orina.
2. Actividad antibacteriana del aparato urinario.
3. Niveles antimicrobianos de la orina frente a niveles séricos.
4. Capacidad bactericida urinaria del antimicrobiano.

Como se puede apreciar, los antimicrobianos constituyen un grupo farmacológico de enorme importancia, además de por su beneficio terapéutico, por el impacto económico que supone su empleo, tanto a nivel hospitalario como ambulatorio. En España, durante 1993, los antimicrobianos constituyeron el segundo grupo de fármacos más prescritos, con 76 millones de envases vendidos (10% del total), y primer grupo de ventas, con 59.000 millones de pesetas, siendo aproximadamente el 84% de estas prescripciones realizadas por responsables de Atención Primaria y pediatría²²⁰. Los costes de tratamiento antimicrobiano han sido estudiados repetidamente a nivel intrahospitalario, por la necesidad de un correcto control de gastos, resultando 25-30% del coste total de medicamentos en hospitales de Estados Unidos y Canadá²²¹.

Para evaluar los costes de tratamientos antimicrobianos en Atención Primaria hay que tener en cuenta menos factores que los referentes a los intrahospitalarios, al no ser necesario incluir costes como los derivados de la administración del antibiótico, almace-

namiento, monitorización y costes procedentes de la estancia hospitalaria. No obstante, deben considerarse otros gastos, como costes de adquisición, costes por dosis empleadas, por duración del tratamiento, por toxicidad y derivados del fracaso terapéutico, así como los costes del incumplimiento terapéutico²²².

Algunos autores denominaron coste del tratamiento basal (CTB) de un ciclo de tratamiento al producto del coste de adquisición por el número de dosis diarias y los días de duración del tratamiento²²³. El problema a la hora de elegir entre diferentes antimicrobianos se completa cuando se compara un antimicrobiano de un coste de adquisición elevado que sólo requiere una dosis diaria frente a otro antibiótico con un coste de adquisición más bajo, pero cuyo CTB se equilibra al necesitar varias dosis. Cuando son necesarios ciclos cortos de tratamiento se produce una importante reducción de CTB. Al CTB es necesario añadir los costes procedentes de un mal cumplimiento terapéutico. Los principales factores que afectan a esto es la duración del mismo, la frecuencia de la administración de la dosis y los efectos secundarios^{224, 225}. Ha quedado sobradamente demostrado en el último estudio publicado este año en el Libro Blanco de infecciones extrahospitalarias y antibioterapia en España²²⁶ que la duración y la frecuencia de administración del tratamiento es una de las variables más importantes para su cumplimiento. Varias razones avalan esta afirmación. La mayoría de los síntomas infecciosos remiten antes de que termine la duración del tratamiento prescrito por el médico, y, en consecuencia, los pacientes no tienen un motivo suficiente para continuar con el mismo. Además, la complejidad del tratamiento hace que a algunos pacientes les resulte difícil su cumplimiento por incompatibilidad con sus actividades sociales o laborales fuera del hogar. Por ello, autores como P. R. Grog²²⁷ señalan que «los regímenes de administración simple son tal vez una de las intervenciones más eficaces para mejorar el cumplimiento

de los pacientes». El estudio que se cita demuestra que el índice de abandono es muy bajo (5,3%) en los pacientes tratados con antibióticos de pauta corta (3 días), mientras que éste aumenta radicalmente (14,2%) en los pacientes tratados con antibióticos de pauta larga (7-9 días). Por último, debemos no olvidar que el buen cumplimiento depende no sólo del establecimiento de una pauta más cómoda para el paciente, sino, además, del adecuado asesoramiento del médico.

En la actualidad son escasos los estudios farmacoeconómicos que analicen en profundidad las alternativas terapéuticas en Atención Primaria en el mundo^{228, 229} y ausentes en nuestro país. Parte del desarrollo de este trabajo pretende aportar humildemente datos sobre dicho tema, con relación al coste tanto del tratamiento con los antimicrobianos orales empleados en el estudio para el tratamiento de ITUs extrahospitalarias, como del coste del diagnóstico necesario. Con relación al coste del tratamiento, se pretende calcular coste/día y coste total correspondiente a tratamiento de tres días de duración, intentando llegar a concluir con la idea presuntiva de qué antimicrobiano a igual efectividad y menor número de dosis por día es el más económico de utilizar.

Con respecto al diagnóstico, iría encaminado el estudio hacia el mínimo número de pruebas necesarias para alcanzar un rápido, seguro y económico diagnóstico presuntivo que permita iniciar el tratamiento antimicrobiano con la mayor rapidez y seguridad.

El abandono del tratamiento prescrito por el médico, junto con la automedicación, son los dos principales problemas que dan lugar al mal uso de los antimicrobianos en nuestro país durante los últimos veinte años, lo que origina tratamientos ineficaces con posteriores recidivas de la infección y elevación del nivel de resistencias bacterianas, obligando a la realización de nuevos tratamientos y alargando el proceso infeccioso con mayores costes de diagnóstico y tratamiento.

La automedicación está basada fundamentalmente en la comodidad de no tener que acudir al médico y al hecho de poseer en el hogar un antimicrobiano que fue eficaz para otro proceso infeccioso del mismo paciente o de otro familiar. Esto alcanza un 18,5% de la población estudiada, según el informe del Libro Blanco²³⁰.

Con relación al abandono del tratamiento, supone un 13,6% de los pacientes que acuden a las consultas médicas, correspondiendo el mayor índice a personas entre 14 y 24 años (18,2%) y 25 a 45 años (14,9%). Se indicó repetidamente que uno de los factores más importantes que inciden en el abandono del tratamiento es la duración del mismo. Efectivamente, como los médicos que colaboraron en dicho estudio corroboran, los tratamientos de una duración de tres días tienen un abandono significativamente menor que aquellos de más larga duración, correspondiendo un 5,3% a los tratamientos de tres días y hasta del 14% a tratamientos de más de siete días de evolución²³¹.

Sobre el incumplimiento (es decir, descuidar las tomas antibióticas en algún momento del tratamiento), suele estar próximo al 22,5% de los pacientes, observándose cómo las pautas más cortas generan un incumplimiento claramente menor (13,7%) que aquellos en que la duración del tratamiento pasa a más de cuatro días (superior al 20%)²³². Respecto a las causas de dicho incumplimiento, el más frecuente (80,5%), según el estudio citado, es el convencimiento por parte del paciente de que al ceder los síntomas ya no necesita continuar con el tratamiento; seguido por los efectos secundarios, principalmente las molestias gastrointestinales²³³.

Los factores citados que dan lugar al mal uso de antimicrobianos nos explican el nivel elevado de resistencias (60-70%) que presenta un antimicrobiano como la amoxicilina, utilizado en nuestro país libremente para el tratamiento de cualquier proceso febril, en muchas ocasiones de origen viral, principalmente en pediatría, frente a *E. coli*, no

siendo su utilización segura en el tratamiento empírico de ITUs no complicadas, proceso en el que este microorganismo alcanza un importante protagonismo. Diversos estudios nos indican cómo esas resistencias son mediadas por beta-lactamasas del tipo TEM-1, en el 80-90% de los casos^{234, 235}.

Las betalactamasas son enzimas que inactivan los antibióticos betalactámicos rompiendo la unión amida del anillo betalactámico²³⁶. Existen numerosas betalactamasas codificadas por genes cromosómicos o por genes transferibles localizados en plásmidos o transposones. Hay diferentes clasificaciones; por el estudio de secuencias de aminoácidos y de nucleótidos se han descrito tres grupos²³⁷, p. ej. de tipo A, que tiene peso molecular de 29.000 con un residuo de serina en el lugar activo, hidrolizando preferentemente a las penicilinas; un ejemplo es la TEM-1. Las de clase B actúan sobre las cefalosporinas y las de clase C incluyen betalactamasas de *E. coli* codificadas por un gen cromosómico; son de tamaño grande (pm: 39.000).

Las mediadas cromosómicamente están en especies y subespecies específicas. Ellas son fuertemente inducibles por algunas de las nuevas cefalosporinas y se hacen resistentes debido a esas enzimas, provocando un creciente problema clínico.

Epidemiológicamente, las resistencias plasmídicas mediadas por betalactamasas son las más importantes, por su capacidad de transferir los genes para producir betalactamasas de otras especies²³⁸.

El grado de resistencia a los antimicrobianos mediados por betalactamasas, en una población bacteriana, está determinado por múltiples factores como la eficacia de dicha betalactamasa para hidrolizar al antimicrobiano, de la velocidad de hidrólisis (V_{max}) y de la afinidad del antibiótico (K_m), pudiéndose incluir, entre otras variables, la cantidad de betalactamasa producida por la célula bacteriana, la sensibilidad de la proteína «blan-

co» (PBP) frente al antimicrobiano y la velocidad de difusión del antibiótico en el periplasma celular²³⁹.

La resistencia a antibióticos betalactámicos en gramnegativos es un problema creciente como el uso clínico de betalactámicos. La producción de betalactamasas juega un importante papel en el mecanismo de resistencias, por lo cual es importante identificar y caracterizar las principales betalactamasas encontradas en la clínica de aislados gramnegativos para conocer el incremento de resistencias, valorar el potencial clínico de betalactámicos y establecer una apropiada política antimicrobiana^{240, 241}.

Las cepas de *E. coli* productoras de betalactamasas TEM-1, frente a la ampicilina, presentan una barrera a la penetración de las moléculas de betalactámicos (membrana externa) y producen una betalactamasa que permanece en el espacio periplásmico. Las enzimas situadas entre la membrana externa y las PBP pueden destruir de forma sucesiva las moléculas del antimicrobiano a medida que atraviesan la barrera²⁴².

Por esta causa, se decidió el estudio de algunas de las características farmacodinámicas a nivel de CMI, CMB, curvas de letalidad y EPA de *E. coli* portador de betalactamasa TEM-1, junto a otra cepa control y otra correspondiente a un aislado clínico portador de hemolisinas, pero portadoras junto con la cepa control de dichas betalactamasas, TEM-1. Con el objetivo de conocer si existe diferencia en el comportamiento entre la cepa portadora de dicha betalactamasa y la cepa productora de hemolisinas con respecto a la cepa control, frente a los principales antimicrobianos utilizados en Atención Primaria, excepto para ampicilina, que sería inactiva para la primera de ellas.

4.1. MEDIDA Y SIGNIFICADO DE LA ACTIVIDAD ANTIBIÓTICA EN ORINA

El mecanismo más utilizado para eliminar la mayoría de los antimicrobianos del organismo es la excreción renal. Los antimicrobianos pueden excretarse sin metabolización previa, como compuestos originales, o tras haber sufrido modificaciones químicas, normalmente en el hígado, en forma de metabolitos activos o inactivos. La concentración de los antimicrobianos en la orina puede ser extremadamente alta en relación a los niveles sanguíneos. Las variaciones del pH urinario y el entorno químico pueden alterar no solamente la excreción renal, sino también la actividad antimicrobiana de la orina; además, debido a la importancia de la orina como ruta de eliminación de los antimicrobianos. Por lo tanto, los temas relacionados con los antimicrobianos en orina son importantes no solamente por razones farmacocinéticas, sino también para el entendimiento de los principios terapéuticos que subyacen en el manejo de las infecciones urinarias.

Entre los factores que determinan la actividad antibiótica en la orina citaremos: Excreción renal. Efectos de la edad y la función renal. Presencia de probenecid. Flujo urinario. Presencia de metabolitos urinarios del antimicrobiano y pH urinario.

4.2. ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL APARATO URINARIO

4.2.1. Actividad antibacteriana intrínseca de la orina

La orina tiene alguna actividad intrínseca para ciertos microorganismos. Las bacterias anaerobias y ciertos microorganismos patógenos que pueden ser aislados de la uretra o de la flora periuretral no se multiplican en orina²⁴³. Uno de los determinantes im-

portantes de la actividad antimicrobiana parece ser el pH urinario. Los estudios «in vitro» demuestran que un pH urinario menor de 5 es normalmente inhibidor del crecimiento bacteriano²⁴³. Los primeros estudios en la era preantimicrobiana intentaron aplicar esta observación usando agentes acidificantes solos (p. ej., cloruro amónico, cloruro de calcio, ácido clorhídrico) en el tratamiento de ITUs. Estas intervenciones terapéuticas fueron de éxito limitado, ya que el grado extremo de acidificación requerido para inhibir el crecimiento bacteriano en orina es difícil de alcanzar y mantener. Además del pH, la concentración de urea, los ácidos orgánicos endógenos tales como el ácido β -hidroxibutírico y el ácido hipúrico²⁴⁴, contribuyen a su actividad antibacteriana. Los ácidos orgánicos endógenos tienden a ser activos sólo a pH ácido. Además, algunas de las actividades antibacterianas observadas en orina a bajo pH se pueden modular por estas sustancias. Las secreciones prostáticas han demostrado inhibir el crecimiento bacteriano en orina²⁴⁵. Se ha sugerido que las sales de cinc pueden ser responsables de esta actividad antimicrobiana prostática. Algunos nutrientes escasean en orina; por ejemplo, la bacteria crece en orina bajo condiciones restrictivas de hierro. Sin embargo, la influencia de la limitación de estos nutrientes en la orina en el crecimiento bacteriano no ha sido estudiada todavía.

4.2.2. Actividad antibacteriana intrínseca de la vejiga

La vejiga tiene alguna actividad antibacteriana intrínseca que parece relacionarse con la superficie vesical²⁴⁶. En los humanos, a pesar de la entrada recurrente de bacterias en la vejiga (al menos en las mujeres), la mayoría de las bacterias no persisten. Por tanto, la mayor parte de las bacterias retenidas en la película de orina que recubre la pared vesical después del vaciado no se multiplican. Los estudios en animales han demostrado directamente esta actividad antimicrobiana de la vejiga²⁴⁷. Mientras los mecanismos de

este efecto no están claramente definidos, se ha sugerido que está relacionado con la producción de mucina por la vejiga²⁴⁸.

4.2.3. Modificación de la actividad bactericida en orina

Ciertos antimicrobianos son menos activos en orina, y los efectos no se explican totalmente por el pH. Otros solutos de la orina probablemente median alguno de estos efectos. Por ejemplo, los cationes divalentes, el calcio y el magnesio, los cuales disminuyen la susceptibilidad de *P. aeruginosa* a los aminoglicósidos, son abundantes en orina. Minuth y cols. mostraron que la orina tenía un efecto inhibidor sobre la gentamicina frente a *E. coli* y *P. aeruginosa*, que era dependiente tanto de la acidez como de la osmolaridad total, y también de los solutos individuales, incluyendo calcio, NaCl y magnesio. Otros antimicrobianos para los cuales la orina tiene un efecto inhibidor incluyen las quinolonas ciprofloxacino, norfloxacino y enoxacino. Se ha sugerido que el contenido de cationes es también el responsable de estos efectos.

4.3. NIVELES ANTIMICROBIANOS DE LA ORINA FRENTE A NIVELES SÉRICOS

Los niveles antimicrobianos pueden ser extraordinariamente altos en relación con los niveles en suero y en otros tejidos. Esto ha llevado a la controversia de si los niveles antimicrobianos en el suero o en la orina son predictores importantes de la cura de una infección urinaria²⁴⁹. Se ha argumentado que la infección renal es una infección tisular de la médula renal, no de la orina, y, por tanto, los niveles antimicrobianos tisulares

(medulares), más que los niveles en orina, predecirán el resultado de la terapia. Por otro lado, la infección vesical, una infección a nivel de mucosa superficial, se trata solamente con niveles urinarios adecuados. Los datos disponibles sugieren que el nivel urinario de los antimicrobianos es el predictor más seguro del resultado terapéutico²⁴⁹. Los estudios que han versado sobre el resultado de infecciones urinarias basándose en la medida de los niveles del suero y de la orina han demostrado que para el éxito son más seguros predictiblemente los niveles urinarios²⁴⁷.

Los antimicrobianos tales como nitrofurantoína y norfloxacino que no alcanzan niveles séricos adecuados para el tratamiento de infecciones de otros sitios del organismo son eficaces terapéuticamente para las ITUs superiores. Como los microorganismos están habitualmente localizados en el tejido medular renal en la pielonefritis, esas observaciones sugieren que la retrodifusión de los antimicrobianos desde la solución tubular concentrada hacia el intersticio renal y de los tejidos medulares infectados explica la cura de la pielonefritis.

Hay, sin embargo, consideraciones importantes en el resultado terapéutico relacionado con los niveles antimicrobianos de la orina y el suero. Un punto a tener en cuenta es la duración de la terapia. Para el tratamiento de las infecciones del tracto urinario bajo (vejiga), una monodosis de ciertos antimicrobianos es habitualmente una terapia eficaz²⁴⁷. Para las infecciones renales, la terapia debe ser mantenida por más tiempo, habitualmente 14 días²⁴⁷. Estas diferencias reflejan el ambiente al cual los microorganismos infectantes están expuestos. En la cistitis, las bacterias están en la pared vesical o en la orina, directamente expuestas a los antimicrobianos excretados en la orina, y con el inóculo infectante decreciendo sustancialmente y de forma intermitente con el vaciado normal. En las infecciones renales, los microorganismos están en un ambiente medular hipertóni-

(medulares), más que los niveles en orina, predecirán el resultado de la terapia. Por otro lado, la infección vesical, una infección a nivel de mucosa superficial, se trata solamente con niveles urinarios adecuados. Los datos disponibles sugieren que el nivel urinario de los antimicrobianos es el predictor más seguro del resultado terapéutico²⁴⁹. Los estudios que han versado sobre el resultado de infecciones urinarias basándose en la medida de los niveles del suero y de la orina han demostrado que para el éxito son más seguros predictiblemente los niveles urinarios²⁴⁷.

Los antimicrobianos tales como nitrofurantoína y norfloxacino que no alcanzan niveles séricos adecuados para el tratamiento de infecciones de otros sitios del organismo son eficaces terapéuticamente para las ITUs superiores. Como los microorganismos están habitualmente localizados en el tejido medular renal en la pielonefritis, esas observaciones sugieren que la retrodifusión de los antimicrobianos desde la solución tubular concentrada hacia el intersticio renal y de los tejidos medulares infectados explica la cura de la pielonefritis.

Hay, sin embargo, consideraciones importantes en el resultado terapéutico relacionado con los niveles antimicrobianos de la orina y el suero. Un punto a tener en cuenta es la duración de la terapia. Para el tratamiento de las infecciones del tracto urinario bajo (vejiga), una monodosis de ciertos antimicrobianos es habitualmente una terapia eficaz²⁴⁷. Para las infecciones renales, la terapia debe ser mantenida por más tiempo, habitualmente 14 días²⁴⁷. Estas diferencias reflejan el ambiente al cual los microorganismos infectantes están expuestos. En la cistitis, las bacterias están en la pared vesical o en la orina, directamente expuestas a los antimicrobianos excretados en la orina, y con el inóculo infectante decreciendo sustancialmente y de forma intermitente con el vaciado normal. En las infecciones renales, los microorganismos están en un ambiente medular hipertóni-

co, mientras la exposición a los antimicrobianos está más limitada y las defensas del huésped, tal como la fagocitosis, pueden estar alteradas. Un determinante adicional del resultado terapéutico es si existen anormalidades estructurales o funcionales. Para ciertas anormalidades, incluyendo cálculos, obstrucción o necrosis papilar, la terapia fallará habitualmente a pesar de los niveles y duración adecuada de la misma; debido a que dichas anormalidades estructurales evitarán el mantenimiento de correctos niveles antimicrobianos en la localización anormal infectada.

Con relación a las concentraciones subinhibitorias de los antimicrobianos, las ITU requieren una adherencia inicial de la bacteria infectante a la superficie epitelial del urotelio para establecer la colonización y posiblemente la infección. Para *E. coli*, el uropatógeno más común y mejor caracterizado, las fimbrias de su superficie parecen importantes para la modulación de este ataque. El receptor utilizado de *E. coli* es una adhesina manosa-sensible. La importancia de este ligando en el establecimiento de la ITU está sujeta a controversia. Algunos estudios han sugerido que es importante para el establecimiento de la infección vesical. Sin embargo, la adhesina sensible a manosa se une ávidamente a la proteína de Tamm-Horsfall más que a las células uroepiteliales, promoviendo la excreción de los microorganismos de la orina con esta proteína. Un segundo receptor es el pilis P, la más común de las adhesinas resistentes a manosa, que ataca al receptor gal-gal de las células uroepiteliales²⁴⁷. La expresión de este receptor por *E. coli* uropatógeno está fuertemente asociada con el síndrome clínico agudo, pielonefritis no obstructiva, pero su papel específico no está completamente entendido.

Las concentraciones sub-MICs de los antimicrobianos han demostrado tener efectos importantes sobre los microorganismos, incluyendo la adherencia bacteriana. Sandberg y cols.²⁴⁷ informaron que las sub-MICs de penicilina, amoxicilina y ampicilina, pero no

las de cloranfenicol o nitrofurantoína, redujeron el ataque de *E. coli* a las células uroepiteliales humanas. Gemmell y cols.²⁴⁷ mostraron que *E. coli* crecido en presencia de estreptomycin, espectinomycin y tetraciclina inhibieron completamente la hemoaglutinación manosa-resistente de *E. coli* «in vitro» durante la fase de crecimiento, pero no en la fase estacionaria. El trimetoprim y el sulfametoxazol produjeron alguna reducción durante la fase de crecimiento, pero no en la fase estacionaria. La ampicilina no afectó la adhesión en ninguna fase y el ácido nalidíxico no tuvo efecto en la fase estacionaria, pero incrementó la hemoaglutinación en la fase de crecimiento. Para la cepa de *Proteus vulgaris* hubo reducción con el crecimiento en sulfametoxazol, estreptomycin y tetraciclina y una reducción leve con kanamicina y trimetoprim. La espectinomycin y la tetraciclina causaron una inhibición completa, pero sólo en fase estacionaria. Por tanto, estos estudios documentan la capacidad «in vitro» de las concentraciones sub-MICs para interferir con las propiedades de adhesividad de los uropatógenos, pero también demuestran gran variabilidad en las observaciones bajo distintas condiciones.

Hay poca información de estudios «in vivo» que clarifiquen la importancia clínica de las alteraciones observadas en la adhesión «in vitro» con los niveles subinhibitorios de antimicrobiano. En un estudio²⁴⁵ se administraron dosis extraordinariamente bajas de ampicilina (10 mg/día durante tres días) en pacientes femeninos con ITU. Los niveles de dicho antimicrobiano en la orina se vio que eran subinhibitorios. Dieciséis (85%) tuvieron cultivos negativos a los dos o tres días, mientras ninguno de los 18 controles fueron negativos. Se sugirió que la eficacia de la baja dosis de antibiótico se debería a la modificación de la adherencia a través de efectos antimicrobianos subletales, pero este mecanismo no se probó.

Las mujeres con ITU inferior pueden prevenir las reinfecciones con la administración continua de ciertos antimicrobianos a bajas dosis³⁴. La eficacia de tal terapia profi-

láctica podría deberse a la interferencia en la adherencia realizada por dichos fármacos a concentración sub-MICs, pero no ha sido todavía bien documentado.

4.4. CAPACIDAD BACTERICIDA URINARIA DE LOS ANTIMICROBIANOS

La determinación de la actividad bactericida en suero y en orina ha sido propuesta como de valor pronóstico en la monitorización de la terapia antibiótica, así como método de investigación de nuevos fármacos o combinaciones antibióticas^{250, 251}. Sin embargo, existe un número limitado de trabajos de este tipo con quinolonas^{252, 253}.

Existe una escasa correlación entre la erradicación de la bacteriuria y los niveles séricos^{254, 255}. La eliminación bacteriana está íntimamente unida a la relación del nivel de sensibilidad del organismo infectante y la concentración del fármaco^{179, 180}.

Concentraciones inhibitorias se consiguen en orina tras la administración oral de antimicrobianos habituales²⁵⁶. Por ello son necesarios altos niveles urinarios mantenidos al menos 12-24 horas, cuando se usan tratamientos monodosis en la infección urinaria aguda no complicada²⁵⁷, donde *E. coli* es con clara diferencia el patógeno más frecuente²⁵⁸.

Se demuestra una escasa correlación entre la actividad bactericida sérica y respuesta clínica en infecciones del tracto urinario²⁵¹; correlación que aumenta claramente con la actividad bacteriostática, y por ende con la bactericida, en orina²⁵¹. La mayor velocidad en la tasa de eliminación de un fármaco puede no ser una desventaja con respecto a la magnitud de la actividad bactericida urinaria²⁵⁹, aunque sí puede serlo con respecto a su duración, factor importante en tratamientos monodosis.

Se han utilizado varias pruebas diferentes para estudiar la actividad antibacteriana

en la orina directamente más que la simple medida de los niveles antimicrobianos. Algunos investigadores han utilizado orina estática, variando el pH, la osmolaridad y los solutos, mientras otros han intentado duplicar la compleja y dinámica fisiología del tracto urinario²⁴⁷.

Estos métodos han intentado considerar no solamente el vaciado vesical intermitente y su influencia en la actividad antimicrobiana, sino también la variación en la excreción de los antimicrobianos. Mientras tales modelos pueden aportar algunos datos de las variaciones dinámicas en el tracto urinario, su relevancia en la situación «in vivo» permanece poco clara. En particular, no han demostrado ser mejores predictores del resultado terapéutico que las pruebas de sensibilidad estándares de los microorganismos infectantes.

II. Objetivos

1. Estudio de la distribución de sexos y edad de los pacientes con ITU extrahospitalaria en la población estudiada.
2. Distribución de los síntomas clínicos en la población estudiada con ITU extrahospitalaria, *E. coli* con y sin hemolisinas.
3. Distribución de la etiología de ITU extrahospitalaria.
4. Estudio de nuevas condiciones de cultivo, buscando nuevos patógenos.
5. Estudio de la relación entre presencia de hemolisinas en *E. coli* y distribución de resistencias antimicrobianas.
6. Distribución de sensibilidades de *E. coli* uropatógeno extrahospitalario frente a tobramicina, gentamicina, ciprofloxacino, pefloxacino, fleroxacino, ofloxacino, fosfomicina, cefuroxima, norfloxacino, ácido pipemídico, cefazolina, amoxicina-ácido clavulánico, cotrimoxazol, amoxicilina.

7. Estudio de mejor prueba diagnóstica de ITU extrahospitalaria. Rapidez-calidad-precio, comparando: sedimento urinario, test de nitritos, test de leucocito-esterasa, presencia de más de 10 PMN/C en sedimento urinario, aspectos de la orina, Tinción de Gram observando 1 B/C y más de 5 B/C, frente al cultivo estándar.

8. Estudio de posibles diferencias, curva de letalidad y EPA de *E. coli* control ATCC 25922, *E. coli* productor de hemolisinas y *E. coli* NCTC 11520 productor de betalamasas TEM 1 frente a: ciprofloxacino, ofloxacino, pefloxacino, fleroxacino, norfloxacino, amoxicilina-ácido clavulánico, cefuroxima-axetilo, cotrimoxazol, fosfomicina.

9. Estudio farmacoeconómico con relación al diagnóstico y tratamiento de las ITUs extrahospitalarias.

10. Evaluar la actividad bacteriostática y bactericida de la orina tras la administración de norfloxacino, frente a la cepa control *E. coli* ATCC 25922 seleccionada; poderes bactericidas úricos (PBU).

11. Evaluar comparativamente la actividad bactericida urinaria en relación con la cinética de excreción del norfloxacino; niveles antimicrobianos de la orina.

III. Materiales y métodos

1. POBLACIÓN

Fueron estudiadas 1.880 muestras de orina; de ellas, 750 presentaron recuentos superiores a 10^4 UFC/ml; de éstas, 227 cumplían el *gold* estándar establecido para el estudio, como es tener un recuento superior a 10^5 UFC/ml y algún síntoma clínico asociado a patología urinaria. En 171 casos presentaban recuentos menores a 10^5 UFC/ml. La población extrahospitalaria estudiada se encuentra con edades entre los 15 y 90 años, de ambos sexos, correspondiendo a mujeres 179 (79%) y a varones 48 (21%), según se puede observar en las tablas de la página siguiente. La procedencia de las muestras se distribuye entre Medicina Interna (31,7%), Urología (36,3%), Urgencias (13,9%) y otros (14,7%).

1.2. TIRAS REACTIVAS MÚLTIPLES AMES (BAYER-DIAGNOSTIC): MULTISTIX 10 SG

1.3. PROCEDENCIA Y PROTOCOLO DEL ESTUDIO DE LAS MUESTRAS

Las muestras de orina estudiadas pertenecían a pacientes ambulatorios que acudieron a urgencias, o policlínica de la Clínica San Camilo de Madrid (centro médico-

TABLA 1

DISTRIBUCIÓN DE MUJERES POR EDADES

Edades de mujeres (años)	Frecuencia (número)	Porcentaje (%)
10-19	28	15,64
20-29	39	21,79
30-39	31	17,32
40-49	15	08,38
50-59	16	08,95
60-69	12	06,70
70-79	19	10,61
80-89	19	10,61

TABLA 2

DISTRIBUCIÓN DE HOMBRES POR EDADES

Edades de hombres (años)	Frecuencia (número)	Porcentaje (%)
10-19	0	00,00
20-29	2	04,17
30-39	3	06,25
40-49	4	08,33
50-59	1	02,08
60-69	13	27,08
70-79	15	31,25
80-89	10	20,83

quirúrgico de 180 camas, situado en el distrito de Salamanca de dicha ciudad), entre los años 1991 y 1994. Fueron incluidas todas las muestras de orina de origen extrahospitalario que solicitaban urocultivo, en pacientes entre 12 y 90 años. Fueron recogidas y siguieron el protocolo, indicando y rellenando una ficha por paciente, con datos como la edad, sexo, clínica por la que se consulta, a los que más tarde se añadiría estudio de: densidad, reacción, albúmina, glucosa, acetona, pigmentos biliares, sangre, leucocito-esterasa, nitritos y turbidez de las muestras.

Se excluyeron del estudio los menores de 12 años, portadores de sonda y los que estaban bajo tratamiento antibiótico en los tres días previos a la recogida de muestras.

Se recogieron 1.880 muestras, indicando al paciente cómo tenía que recoger en un primer frasco la primera muestra de orina de la mañana para estudio de anormales y sedimentos, siendo la última parte de esa micción recogida sobre otro recipiente, tras

lavado previo de genitales con agua y jabón. La muestra se entregaba al laboratorio antes de una hora, o se guardaba en la nevera a 4° C hasta su entrega.

En el laboratorio de Microbiología, las muestras remitidas eran procesadas inmediatamente o conservadas en nevera a 4° C hasta su estudio.

En cada individuo incluido en el estudio se analizaron las siguientes características:

- Edad.
- Sexo.
- Consulta de la que procedía.
- Síntomas clínicos que presentaba.
- Si había ingerido antimicrobianos los últimos cuatro días.

En las muestras de orina se determinaban:

- Aspectos de la orina (claro o turbio).
- Densidad.
- Reacción.
- Albúmina.
- Glucosa.
- Acetona.
- Pigmentos biliares.
- Sangre.
- Nitritos.

- Leucocito-esterasa.
- Sedimento urinario (x 400) tras centrifugar la orina cinco minutos a 3.000 r.p.m.
- Tinción de Gram, anotando número de bacilos por campo presente.
- Recuento bacteriano.
- Identificación del microorganismo en caso necesario.
- Estudio de sensibilidades frente a amoxicilina, amoxicilina con ácido clavulánico, fosfomicina, cefuroxima, trimetoprim-sulfametoxazol, ácido pipemídico, norfloxacin, ciprofloxacino, ofloxacino, fleroxacin, pefloxacino, gentamicina y tobramicina.

La recogida de la muestra se realizó según las normas establecidas, ya indicadas anteriormente. El urocultivo se considera positivo cuando el recuento de colonias por mililitro de orina era superior a 10^5 , aunque para algunos autores es positivo a partir de 10^4 UFC/ml de orina.



Foto 3

Para evaluar el aspecto de la orina se transfería la orina con una jeringa a un tubo transparente, siendo observado al trasluz con una buena iluminación (véase foto 3). Si no es transparente la muestra, se añadirá una gota de ácido acético al tubo, mezclándose dos o tres veces y observándolo de nuevo, con la intención de disolver los cristales de fosfato, si eran éstos los responsables de la ausencia de claridad. La orina es inspeccionada por un segundo observador tras los pasos anteriores, siendo clasificada como turbia o clara. Este segundo observador introduce en la orina la tira Multitest 36 (Ames), comparando, según el tiempo indicado por la casa comercial, los diferentes parámetros de la tira con relación a colores, controles situados en la caja portadora de dichas tiras. Las reacciones de leucocito-esterasa y nitritos son las más importantes de la tira para este estudio (véase foto 4).

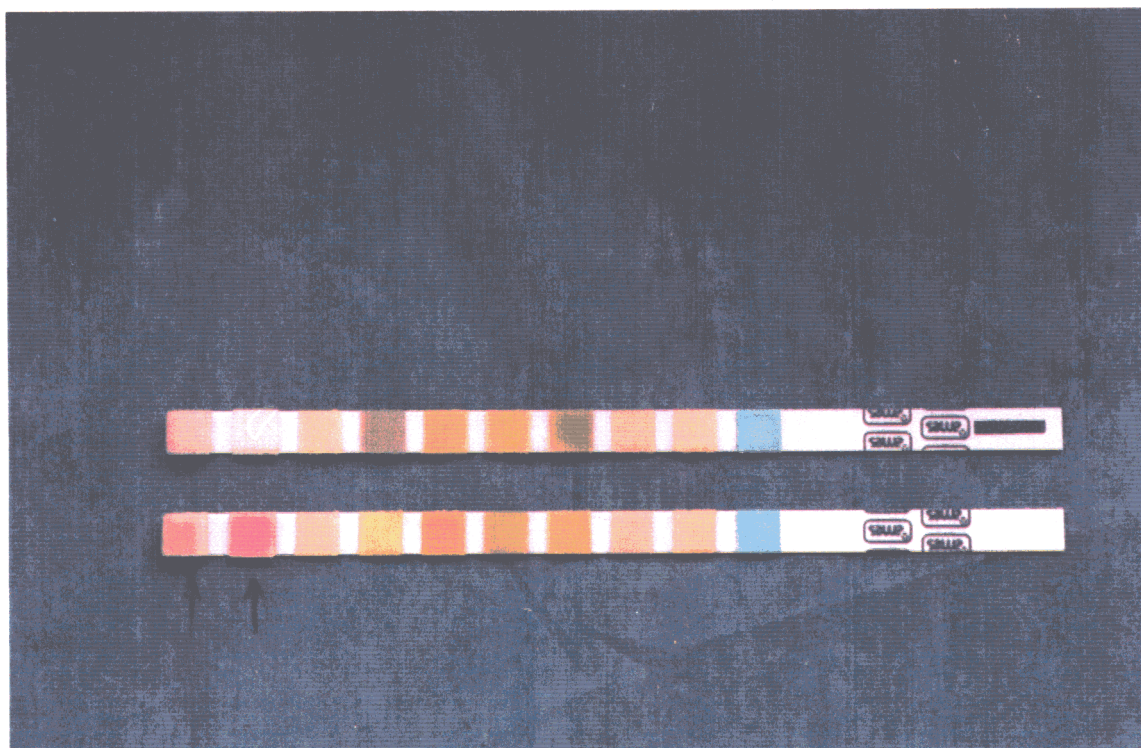


Foto 4

Las orinas fueron centrifugadas a 3.000 r.p.m. por un período de cinco minutos; tras decantar el sobrenadante, fue observado el sedimento ($\times 400$), viéndose diez campos y obteniendo un valor medio de los leucocitos, hematíes y bacterias observadas.

La otra muestra de orina fue sembrada con asa calibrada de platino con dilución 1/400 en medios de cultivo de Agar sangre de carnero al 5% y CLED, incubadas hasta 48 horas a 37° C, siendo también incubadas en atmósfera de CO₂ al 10%. A las muestras que presentaban crecimiento a las primeras 18-24 horas se les realizaba recuento bacteriano e identificación de germen utilizando el sistema API 20E para enterobacterias (véase foto 5) y API para estreptococos. Los estafilococos fueron identificados como *Staphylococcus coagulasa-negativo*, los que no coagulaban el plasma citratado, y *Staphylococcus aureus*, los que presentaban reacción positiva. Las *Candidas* se clasificaron como *albicans* sp. por el test de filamentación, para posteriormente realizar estudio de sensibilidades



Foto 5

TABLA 3							
PATRONES DE SENSIBILIDAD RECOMENDADOS POR NCCLS POR DIÁMETRO DEL DISCO Y CMI DE ANTIMICROBIANOS PARA MICROORGANISMOS AISLADOS EN ITUs							
Antimicrobianos	Conc. disco (mcg)	Diámetro halo (mm)			MIC (mg/L)		
		R	I	S	R	MS	S
Amoxicilina	10	≤13	14-16	≥17	≥32	16	≤8
Amoxi-Ac. clavulánico	20/10	≤13	14-17	≥18	≥32/16	16/8	≤8/6
Fosfomicina	200	≤12	13-15	≥16	≥128	64	≤32
Cefalotina	30	≤14	15-17	≥18	≥32	16	≤8
Cefuroxima-axetil	30	≤14	15-20	≥23	≥32	8/16	≤4
Norfloxacino	10	≤12	13-16	≥17	≥16	8	≤4
Ciprofloxacino	5	≤15	16-20	≥21	≥4	2	≤1
Ofloxacino	5	≤15	16-20	≥20	≥4	2	≤1
Pefloxacino	---	—	---	---	≥8	2/6	≤1
Fleroxacino	---	—	---	---	≥8	2/6	≤1
Cotrimoxazol	1,25/23,75	≤10	11-13	≥16	8/152	4/56	≤2/28
Gentamicina	10	≤12	13-14	≥15	≥16	8	≤6
Tobramicina	10	≤12	13-14	≥15	≥16	8	≤4
Ácido pipemídico	30	≤16	17-20	≥21	≥32	16/8	≤4

por el método disco-placa, siguiendo los criterios de la NCCLS (tabla núm. 3), clasificándose como resistentes, sensibles o intermedicamente resistentes, según el diámetro de halo que presentaban (véase foto 6).

1.4. MICROORGANISMOS

- *E. coli* ATCC 25922.
- *E. coli* NCTC 11560 (productor de betalactamasas TEM-1).



Foto 6

- *E. coli* aislado clínico, portador de hemolisina.
- *E. coli* ISF 432.

Las cepas fueron conservadas a -20° C en leche desnatada. Para su utilización se realizaron siembras y subcultivos cada 2-3 días en medio agar Müller Hinton y se incubaron en estufa (Heraeus) a 37° C durante 18-24 horas.

1.5. ANTIMICROBIANOS

- Trimetoprim-sulfametoxazol (Roche).
- Fosfomicina (CEPA).

- Amoxicilina/ácido clavulánico (Smithkline Beecham, S. A.).
- Cefuroxima-axetilo (Glaxo).
- Ciprofloxacino (Bayer, S. A.).
- Norfloxacino (Shering Co.).
- Ofloxacino (Hoechst Ibérica, S. A.).
- Fleroxacino (Roche, S. A.).
- Pefloxacino (Rhône-Poulenc Farma, S. A. E.).

Los diferentes antimicrobianos fueron servidos por los laboratorios correspondientes en forma de polvo valorado. Siguiendo las recomendaciones comerciales se prepararon soluciones con sus respectivos disolventes y se distribuyeron en viales de 0,5 ml. Éstos fueron congelados para su posterior conservación, siendo descongelados menos de sesenta minutos antes del ensayo. También aportaron comprimidos de norfloxacino de 200 mg.

1.6. DETERMINACIÓN DE CMI Y CMB A LAS CEPAS PROBLEMÁTICAS

A las tres cepas elegidas para el estudio se les realizó estudios de CMI y CMB, por el método de macrodilución en caldo. La CMI es definida como la concentración de antimicrobiano que inhibe el crecimiento macroscópico visible (turbidez) en comparación con el tubo control. La CMB es la concentración de antimicrobianos que destruyen el 99,9% de los microorganismos determinados por la ausencia de crecimiento bacteriano

en la placa. Se determina por siembra en placa de alícuotas tomadas de la bacteria de diluciones seriadas para la CMI.

1.7. DETERMINACIÓN DE LA CURVA DE LETALIDAD

El día anterior al ensayo se toman 1-2 colonias de las cepas a ensayar y se prepara un inóculo en caldo Müller Hinton, incubándolo en una estufa a 37° C durante 18 horas. Del inóculo "overnight" en fase estacionaria se toma una alícuota de dos mililitros y se diluye en 150 ml de caldo fresco, siendo la concentración bacteriana final de 10⁷ UFC/ml. Se distribuye en tres matraces, poniendo 50 ml en cada uno, enumerándose como 1, 2 y 3.

El numerado como 1 se deja como control; al número 2 se le añade antimicrobiano en concentración equivalente a CMI, y, por último, al matraz 3 se le añade 10 veces la CMI del antimicrobiano correspondiente. A intervalos de una hora se tomarán alícuotas de cada matraz realizando diluciones seriadas en suero fisiológico y añadiendo 25 microlitros de cada dilución a placas con medio de Müller Hinton, repitiendo la operación hasta la séptima hora. Posteriormente se incubarán a 35° C durante 18 horas. Pasado este tiempo, se realizan recuentos de colonias relacionando en tablas número de colonias presentes por hora de incubación. Después se trazan curvas de letalidad indicando en abscisas hora y en ordenadas número de colonias, expresado en log con base 10 (véase gráficos n.º del 1 al 3, 7 al 9, 13 al 15, 19 al 21, 25 al 27, 31 al 33, 37 al 39, 43 al 45 y 49 al 51), para observar el comportamiento del microorganismo frente a concentraciones del antimicrobiano correspondiente a CMI y 10 CMI frente a curva control.

1.8. EFECTO POSTANTIBIÓTICO

Tomamos una o dos colonias del microorganismo a estudiar unas veinticuatro horas antes del ensayo y se prepara un inóculo en caldo de Müller Hinton, incubando 37° C en una estufa durante 18-24 horas. Del inóculo "overnight" se tomó una alícuota de dos mililitros y se diluyó en 150 ml de caldo recientemente preparado. Tomamos cada 30 minutos lecturas de absorbancia de la dilución preparada por espectrofotometría, hasta alcanzar una absorbancia correspondiente a 0,3 a 580 nm, que corresponde a 10^8 , ajustando la concentración final del inóculo a 10^7 UFC/ml. Se distribuye en tres matraces, correspondiendo 50 ml a cada uno, enumerándolos como 1, 2 y 3. Posteriormente añadimos antimicrobianos a los matraces 2 y 3 a concentraciones de 1 CMI y 10 CMI respectivamente, incubando por una hora a 37° C en baño de agitación a 55 r.p.m. Pasado este tiempo, eliminamos el antimicrobiano por dilución de 1.000 veces en medio fresco. El matraz control señalado como 1 es tratado de igual manera. Se prolonga la incubación de los matraces en los que se realizó el lavado del antimicrobiano por siete horas, recogiendo alícuotas en intervalos de una hora y tras diluciones seriadas en suero fisiológico se siembran 25 microlitros en placas de Müller Hinton, que se dejan incubando 18-24 horas. Pasado este tiempo, se realiza el recuento de colonias expresándolo en UFC/ml.

Para determinar el efecto postantibiótico (EPA) se siguió la técnica explicada en la Introducción, calculando el tiempo necesario (T) para que el cultivo de bacterias tratadas creciera una unidad de logaritmo; igualmente se procede con el cultivo control (C), siendo el tiempo EPA la diferencia T-C.

1.9. CARACTERÍSTICAS DEL ENSAYO CLÍNICO PARA EL ESTUDIO DE PBUS Y NIVELES URINARIOS DE NORFLOXACINO

Todas las muestras, una vez centrifugadas, fueron introducidas en recipientes para su congelación y transporte, siendo almacenadas a -40°C hasta el momento de su procesamiento.

En todas las muestras de orina en el total de tiempos se determinó el valor de pH.

Todas las muestras fueron recepcionadas según la siguiente nomenclatura:

V..... voluntario	M..... muestra;
N..... número	N..... norfloxacin
A..... antibiótico;	O..... orina.

Los resultados de las concentraciones y sus correspondientes títulos bactericidas se expresan en las tablas siguientes individualizadas por voluntario, según nomenclatura anteriormente expresada. Los niveles úricos medios para norfloxacin, así como su título bactericida, se reflejan en las tablas NOM.

1.9.1. Tipo de ensayo clínico

Ensayo clínico en fase I a dosis única de norfloxacin (400 mg) por vía oral, cruzado, randomizado y simple ciego.

1.9.2. Definición de los sujetos experimentales y testigos

Definición: voluntarios sanos.

Número: un mínimo de 12 sujetos experimentales.

Selección de sujetos: 12.

1.9.3. Criterios de inclusión

- Varones de edad comprendida entre 18 y 30 años que tras haber recibido información al respecto del diseño, fines del estudio y posibles riesgos que de él pueden derivarse, accedan a participar.

- Consentimiento firmado tras recibir la información aludida en el párrafo anterior. En cualquier momento y por cualquier razón los voluntarios podrán revocar su consentimiento para participar en el estudio, abandonándolo.

- Urocultivo negativo previo.

1.9.4. Criterios de exclusión

- Sujetos afectos de patología orgánica o psíquica. Previamente a la inclusión de cualquier voluntario se realizará historia clínica, exploración física y las exploraciones complementarias necesarias para confirmar el estado de cada voluntario.

- Antecedentes de hipersensibilidad a fármacos.

- Sujetos que reciban otro tipo de tratamiento farmacológico o lo hayan recibido el mes previo.

- Incapacidad para seguir las instrucciones o colaborar durante el desarrollo del estudio.

1.9.5. Definición del tratamiento a seguir

Tabletas VO de 400 mg de norfloxacino.

1.9.6. Toma de muestras y procesamiento de las mismas

Se tomará la orina emitida en los tiempos prefijados en el protocolo: 0-2, 2-4, 4-8, 8-12, 12-16, 16-24, 24-36, 36-48, 48-60 y 60-72. Tras agitación y medición de su volumen se congelarán 10 cc para la determinación de los Poderes Bactericidas Úricos y los Niveles Antimicrobianos Úricos.

Para la determinación de los Poderes Bactericidas se utilizará la cepa de *E. coli* ATCC 25922, y para los Niveles Antimicrobianos se utilizará la cepa de *E. coli* ISF 432. Su determinación se hará por métodos previamente estandarizados^{250, 251}.

Se determinarán las CMI de las cepas utilizadas frente a norfloxacino por métodos estandarizados.

1.10. MÉTODO PARA REALIZACIÓN DE ACTIVIDAD BACTERICIDA URINARIA (PBU)

Preparación del inóculo.— Partimos de un cultivo "overnight" de *E. coli* ATCC 25922, añadiendo 5 ml de éste a un matraz de 50 ml conteniendo 20 ml de caldo Müller Hinton

(Oxoid). Se introduce en baño de agitación a 37° C para verificar la existencia de células viables en el cultivo original y para obtener un cultivo en fase exponencial. Se deja crecer de una a tres horas, tomando muestras cada treinta minutos hasta que la medida de la absorbancia a 580 nm por espectrofotometría alcance 0,3 unidades, lo que supone aproximadamente 10^8 UFC/ml. Se utiliza como blanco caldo Müller Hinton estéril. Es necesario comprobar el inóculo utilizado, para lo cual se realiza una serie de diluciones decimales. En el caso de una absorbancia de 0,3, la dilución 10^4 en agar se corresponde con 200 UFC/ml (volumen del inóculo: 20 microlitros).

Preparación de la muestra (orina basal).- De la orina previamente filtrada se toman 2 ml y se le añaden a 8 ml de caldo Müller Hinton. Esta mezcla final se utiliza como diluyente de la muestra problema. Se toman 100 microlitros y se inoculan en los pocillos de una placa de microtriter, salvo los pocillos de la primera columna, que quedan vacíos. Seguidamente, sobre los pocillos vacíos se inoculan 200 microlitros de muestra problema, tomando 100 microlitros de este pocillo e inoculándolos al siguiente pocillo (dilución $\frac{1}{2}$), y así sucesivamente el resto de los pocillos.

Inoculación de la muestra.- Se toma un ml del inóculo previamente estandarizado (10^8 UFC/ml) y se añade a 100 ml de caldo para obtener un inóculo de 10^6 UFC/ml. Se siembran 100 microlitros en cada uno de los pocillos, resultando una concentración final de 5×10^5 UFC/ml. Las placas se cubren con tapadera estéril para la evaporación, incubándose durante 8-24 horas a 37° C.

1.11. PROCEDIMIENTO PARA LA REALIZACIÓN DE LOS NIVELES ANTIMICROBIANOS DE ORINA

Para el ensayo de los niveles microbiológicos de norfloxacin se realiza el método agar-dilución, empleando como cepa de ensayo *E. coli* ISF 432 en agar Müller Hinton número 1 (Difco).

Curva patrón de los niveles urinarios.- La curva patrón para el estudio de la orina se realiza con una mezcla de orina libre de antibiótico (orina basal) de los propios voluntarios. Para la obtención de las soluciones de antimicrobiano se prepararon viales de 1.000 microgramos/ml de norfloxacinó utilizando como disolvente agua-metanol-hidróxido sódico. A partir de esta solución madre y diluyéndose en la orina basal de los voluntarios se obtuvieron las siguientes diluciones: 400, 200, 100, 50 y 25 microgramos/ml.

Preparación del inóculo.- Se procede igual que en los PBUs, con la excepción de que la cepa utilizada es *E. coli* ISF 432. Una vez alcanzado espectrofómicamente el inóculo de 10^8 UFC/ml, se extrae un ml del matraz y se añade a 100 ml de agar antibiótico número 1 en caliente, consiguiendo una concentración final de 10^6 UFC/ml. A continuación se añaden a placas Petri de 20 mm de diámetro 20 ml del agar conteniendo el inóculo y se depositan en una superficie plana (nivel) para permitir una solidificación plana y homogénea. Una vez enfriado el agar, se procede a la realización de pocillos de 8 mm con la boca de un tubo de ensayo con dicho diámetro. Se procede a la extracción mediante bomba de vacío acoplada a una pipeta Pasteur de los círculos realizados en el agar para obtener así los pocillos. Éstos se inoculan con las concentraciones indicadas de 400 a 25 microgramos/ml de norfloxacinó con el fin de determinar la curva patrón. En el resto de las placas se inoculará en cada pocillo la orina perteneciente a cada voluntario, previamente conservada a -40° C desde su obtención, tras recibir una dosis oral de 400 mg de norfloxacinó, correspondiente a los intervalos prefijados en el protocolo: 0-2, 2-4, 4-8, 8-12, 12-16, 16-24, 24-36, 36-48, 48-60, 60-72 horas. Se incuban durante 18-24 horas y se leen los halos de inhibición con un pie de rey. Con los datos obtenidos de las curvas patrón se realiza una recta de regresión enfrentándose cada concentración a los milímetros del halo

de inhibición de crecimiento correspondiente. De los halos de inhibición obtenidos en cada una de las muestras problema se toman las correspondientes medidas en milímetros y se extrapola en la recta de regresión patrón, obteniéndose la concentración de problemas de cada tiempo y voluntario prefijada en el protocolo. Para cada voluntario y concentración los experimentos se realizaron por triplicado.

1.12. ESTUDIO DE FACTOR DE VIRULENCIA (HEMOLISINAS)

En las cepas de *E. coli* aisladas se estudió la presencia de hemolisinas, observando la presencia de hemólisis alrededor de la colonia en el medio de agar sangre de carnero al 5% (véase foto 7).

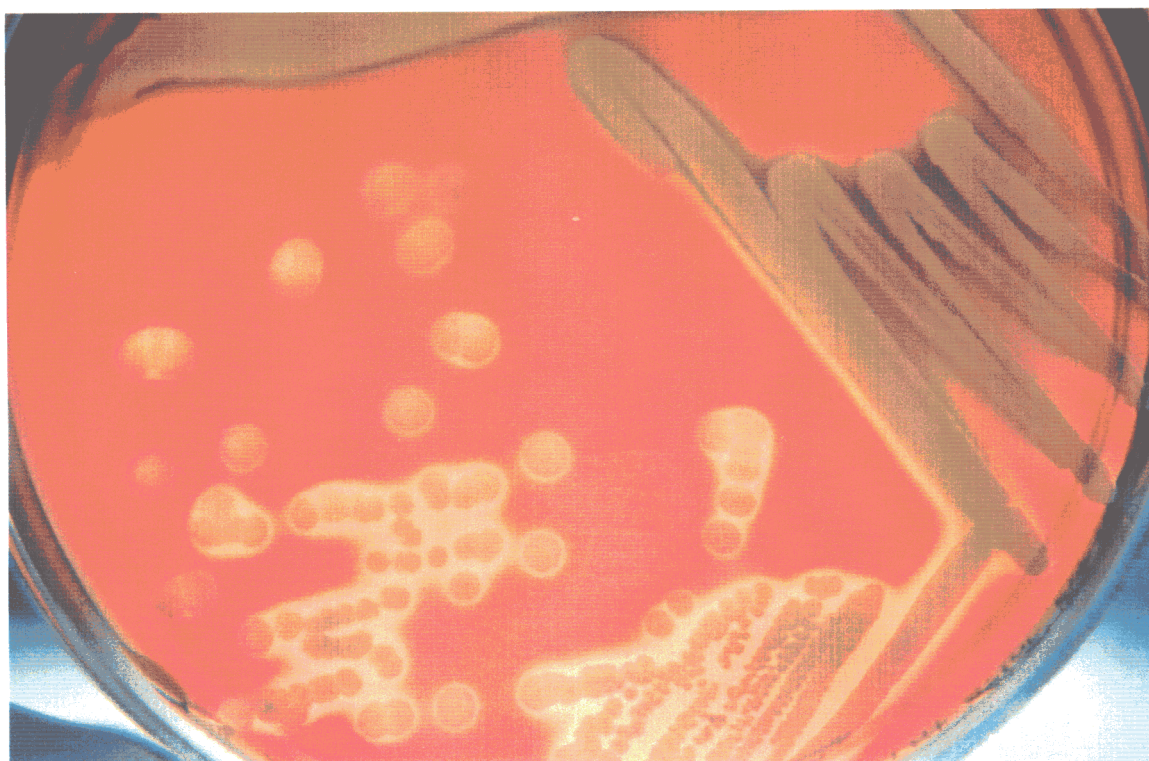


Foto 7

1.13. FARMACOECONOMÍA

1.13.1. *Cálculo del coste correspondiente a tres días de tratamiento* con ciprofloxacino, ofloxacino, norfloxacino, ácido pipemídico, fosfomicina, trimetoprin-sulfametoxazol, cefuroxima-axetilo, amoxicilina-ácido clavulánico y del tratamiento monodosis de fosfomicina-trometamol y pefloxacino. Según tarifas medias indicadas en el Vademécum Internacional (1996).

1.13.2. *Cálculo del coste del estudio analítico.*- Se comparan los diferentes métodos diagnósticos, con relación a las tarifas establecidas por tres sociedades médicas con importante número de afiliados en Madrid para el año 1996: ASISA, Caja-Salud y Mutua General Deportiva.

1.14. ANALISIS ESTADÍSTICOS

Para estudiar la asociación entre las variables cualitativas se ha utilizado el test chi-cuadrado de Pearson, y el test exacto de Fisher cuando no se verificaban las condiciones de validez del test anterior.

Para evaluar la eficacia de las pruebas diagnósticas se presentan los índices de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo, con sus respectivos intervalos de confianza.

El nivel de significación considerado ha sido $p < 0,05$.

Los análisis han sido realizados con el paquete estadístico SPSS versión 6.01 para Windows.

IV. Resultados

1. DISTRIBUCIÓN POR SEXOS Y EDADES

Se estudiaron 1.880 muestras que fueron remitidas para realización de urocultivo; de ellas, 227 presentaron en los recuentos bacterianos más de 10^5 UFC/ml asociado a por lo menos un síntoma clínico relacionado con patología urinaria, y en 171 muestras se aislaron menos de 10^5 UFC/ml con más de 10 PMN en el sedimento urinario, presentándose de esta sintomatología urinaria 51 casos (29,8%), por lo cual únicamente en el 21,17% (398) de las muestras fue de utilidad la realización del cultivo de orina.

ITUs asociado a un recuento bacteriano superior a 100.000 UFC/ml se distribuye por sexos de tal manera que en las mujeres supone 179 casos (79%) (tabla 1), mientras que a los hombres les corresponde el 21% (48 casos) (tabla 2).

Se observó diferencia significativa en las edades de presentación de las ITUs tanto en varones como en mujeres. En las mujeres, según nuestro estudio, el 54,75% se encuentra entre 10 y 39 años, correspondiendo un 17,33% entre 40 y 60 años y un 27,92% entre 60 y 90 años. Se alcanza el mayor porcentaje entre 20 y 29 años, con el 21,79% (véase tabla 4).

TABLA 4 DISTRIBUCIÓN DEL PORCENTAJE POR EDADES Y SEXO				
Edades	Varones		Mujeres	
	%	N.º	%	N.º
10-19	00,00	0	15,64	28
20-29	04,17	2	21,79	39
30-39	06,25	3	17,32	31
40-49	08,33	4	08,38	15
50-59	02,08	1	08,95	16
60-69	27,08	13	06,70	12
70-79	31,25	15	10,61	19
80-89	20,83	10	10,61	19

En los hombres el número de casos se incrementa a partir de los 60 años, alcanzando el 79,16% entre 60 y 90 años y el 20,84% en el resto de las edades. El mayor porcentaje para los varones se alcanza entre 70 y 80 años, con el 31,25% (véase figura 11).

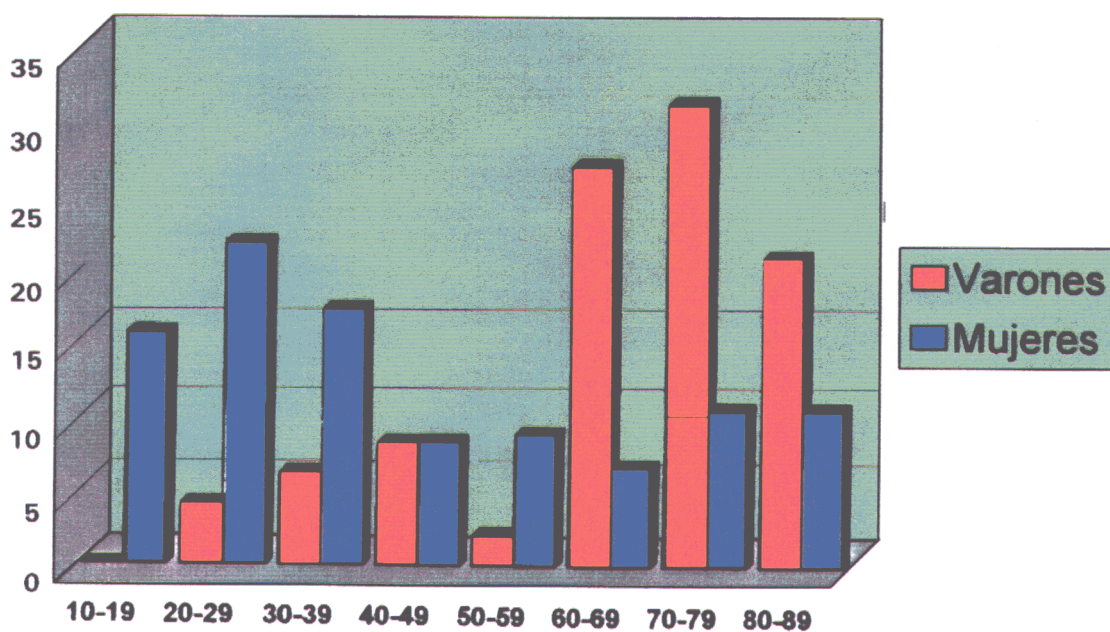


Figura 11

2. CLÍNICA: DE ITU POR *E. COLI* CON Y SIN HEMOLISINAS

La distribución de los síntomas clínicos presentes en las 225 muestras con resultados superiores a 10^3 UFC/ml se reparten de la siguiente manera: 40,88% (92) representa disuria y 27,11% (61) representa disuria y polaquiuria, 14,67% (33) representa dolor renal y fiebre, 9,34% (21) representa hematuria macroscópica y disuria, 4,44% (10) representa fiebre y 3,56% (8) representa únicamente dolor renal (véase figura 12).

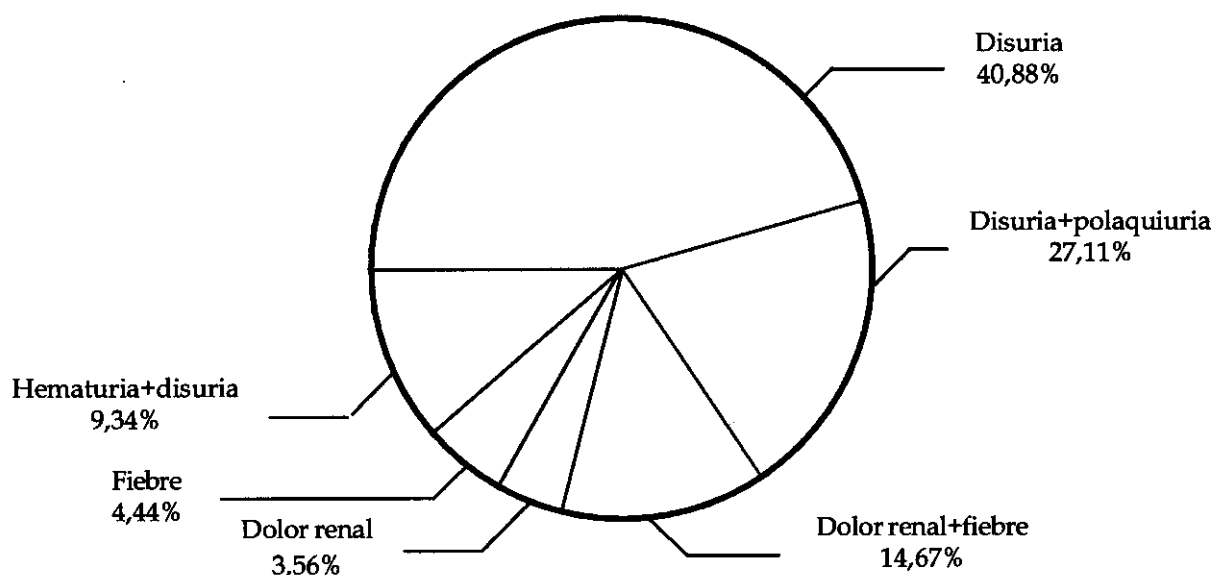


Figura 12. Distribución de la sintomatología presente en las muestras estudiadas

Con relación a la clínica presentada en pacientes con ITU por *E. coli* hemolisina positivo y sin hemolisina, se distribuye de la siguiente manera: 44,6% frente a 6,2% ($p=0,00$) representa dolor renal y fiebre. Para hematuria más disuria 16,1% frente a 3,1% ($p=0,003$). Con polaquiuria más disuria 8,9% con hemolisina frente a 31,8% ($p=0,003$). Para disuria

como único síntoma 7,1 con hemolisina frente a 45% sin ella (0,00). Hematuria 21,4% frente a 7,8% (p:0,010). Polaquiuria 1,8% con hemolisina frente a 6,2%, no siendo significativo para este síntoma dicha presencia (véase tabla 5).

TABLA 5 DISTRIBUCIÓN DE SÍNTOMAS CLÍNICOS ASOCIADOS A ITU POR <i>E. COLI</i> CON Y SIN HEMOLISINAS			
Clínica	<i>E. coli</i> (Hemolisina +) n= 56	<i>E. coli</i> (Hemolisina -) n= 129	P
Dolor renal + Fiebre	44,6%	06,2%	0,000
Hematuria + Disuria	16,1%	03,1%	0,003
Polaquiuria + Disuria	08,9%	31,8%	0,000
Disuria	07,1%	45%	0,000
Hematuria	21,4%	07,8%	0,010
Polaquiuria	01,8%	06,2%	NS

3. ETIOLOGÍA

Al desarrollar la etiología obtenida, vamos a diferenciar entre la correspondiente a todas las muestras con crecimiento, a las muestras con recuentos bacterianos entre 10^4 - 10^5 UFC/ml y sedimento urinario con más de 10 PMM/campo, y a las muestras con recuentos bacterianos superiores a los indicados y con algún síntoma clínico.

Con relación al conjunto de muestras con recuentos superiores a 10^4 UFC/ml (750), el microorganismo más frecuente es *E. coli*, presente en 566 muestras, correspondiendo el 75,4%, seguido de *P. mirabilis* en 58 muestras, con el 7,73%; *E. faecalis* fue el tercer ger-

men, presente en 40 muestras, con 5,32%, seguido de *S. coagulasa-negativo*, 3,21%; *K. pneumoniae*, 2,66%. Por último, *Enterobacter* sp., *Pseudomonas aeruginosa*, cultivos mixtos, *Candidas*, etc. (véase tabla 6).

TABLA 6 DISTRIBUCIÓN DE LA ETIOLOGÍA CORRESPONDIENTE A TODAS LAS MUESTRAS CON MÁS DE 10 ⁴ UFC/ML		
Microorganismo	Frecuencia (N.º)	Porcentaje (%)
<i>E. coli</i>	566	75,40
<i>Proteus mirabilis</i>	58	7,73
<i>E. faecalis</i>	40	5,32
<i>S. coagulasa negativo</i>	24	3,21
<i>K. pneumoniae</i>	20	2,66
<i>Enterobacter</i> sp.	12	1,60
<i>Ps. aeruginosa</i>	7	0,94
<i>E. coli</i> + <i>E. faecalis</i>	4	0,53
<i>E. coli</i> + <i>P. mirabilis</i>	3	0,04
<i>E. coli</i> + Otros	3	0,40
<i>S. aureus</i>	3	0,40
<i>S. saprophyticus</i>	2	0,27
<i>Candida albicans</i>	2	0,27
Otras <i>Candidas</i>	2	0,27
<i>S. agalactiae</i>	2	0,27
<i>C. urealyticum</i>	1	0,23
<i>K. pneumonia</i> + otro	1	0,23

Estudiando el agente aislado en las muestras con recuentos inferiores a 10⁵ UFC/ml y sedimento urinario con más de 10 PMN/campo, es decir, con respuesta inflamatoria, que está presente en 171 muestras, *E. coli* está presente en 141 muestras (82,45%); *P. mira-*

bilis, en 10 (5,85%); *E. faecalis*, en 6 (3,51%). El resto se distribuyen entre *S. coagulasa-negativo* (2,92%), *Ps. aeruginosa* (2,34%), *K. pneumoniae* (1,75%), *Enterobacter sp.* (0,59%) y *S. aureus* (0,59%) (véase tabla 7).

TABLA 7 DISTRIBUCIÓN DE LA ETIOLOGÍAS EN MUESTRAS CON RE- CUENTOS MENORES DE 10^5 UFC/ML Y MÁS DE 10 PMN/C EN EL SEDIMENTO URINARIO.		
Microorganismo	Frecuencia (N.º)	Porcentaje (%)
<i>E. coli</i>	141	82,45
<i>Proteus mirabilis</i>	10	5,85
<i>E. faecalis</i>	6	3,51
<i>S. coagulasa negativo</i>	5	2,92
<i>Ps. aeruginosa</i>	4	2,34
<i>K. pneumoniae</i>	3	1,75
<i>Enterobacter sp.</i>	1	0,59
<i>S. aureus</i>	1	0,59

Entre las muestras con recuentos microbianos superiores a 10^5 UFC/ml asociado a algún síntoma clínico urinario, *E. coli* es el de mayor frecuencia, presente en 185 casos (81,5%), *Proteus mirabilis* es causa de infección urinaria en 18 casos (7,93%); *Enterococcus faecalis*, en 8 casos (3,52%); *Klebsiella pneumoniae*, 7 casos (3,09%); *Staphylococcus saprophyticus*, 2 casos (0,88%); *Enterobacter sp.*, 2 casos (0,88%); *S. aureus*, 2 casos (0,88%); *S. coagulasa-negativo*, 1 caso (0,44%); *Corynebacterium urealyticum*, 1 caso (0,88%); *Candida albicans*, 1 caso (0,44%) (véase tabla 8).

TABLA 8 DISTRIBUCIÓN DE LA ETIOLOGÍA EN MUESTRAS CON RE- CUENTOS SUPERIORES DE 10^5 UFC/ML Y ALGÚN SÍNTOMA CLÍNICO		
Microorganismo	Frecuencia (N.º)	Porcentaje (%)
<i>E. coli</i>	185	81,50
<i>Proteus mirabilis</i>	18	7,93
<i>E. faecalis</i>	8	3,52
<i>K. pneumoniae</i>	7	3,09
<i>S. saprophyticus</i>	2	0,88
<i>Enterobacter sp.</i>	2	0,88
<i>S. aureus</i>	2	0,88
<i>S. coagulasa negativo</i>	1	0,44
<i>C. urealyticum</i>	1	0,44
<i>Candida albicans</i>	1	0,44

4. NUEVAS CONDICIONES DE CULTIVO

La incubación de las placas durante 48 horas, la utilización del medio de CO₂ y el cultivo en placas de agar sangre presentó modificación en el crecimiento del microorganismo presente en las muestras con recuentos iguales o superiores a 10^5 UFC/ml asociadas a sintomatología clínica, en relación a las muestras únicamente revisadas en medio de Cled, en dos cultivos de las 227 totales (0,88%). Uno con pH alcalino (7,5) presentó crecimiento significativo de *Corynebacterium urealiticum* y en el otro se aisló *Candida albicans*. Ambos aislamientos se beneficiaron de las 48 horas de incubación (véase tabla 9).

TABLA 9 CRECIMIENTO MICROBIANO EN DIVERSOS MEDIOS DE CULTIVO AMBIENTES Y TIEMPO DE INCUBACIÓN				
Microorganismo	CLED	A.S.	A.S. + CO ₂	Incubación (48 horas)
<i>E. coli</i>	185	185	185	185
<i>Proteus mirabilis</i>	18	18	18	18
<i>E. faecalis</i>	8	8	8	8
<i>K. pneumoniae</i>	7	7	7	7
<i>S. saprophyticus</i>	2	2	2	2
<i>Enterobacter sp.</i>	2	2	2	2
<i>S. aureus</i>	2	2	2	2
<i>S. coagulasa negativo</i>	1	1	1	1
<i>C. urealyticum</i>	0	0	0	1
<i>Candida albicans</i>	±	±	---	1

5. PRESENCIA DE HEMOLISINAS ASOCIADO A RESISTENCIAS ANTIMICROBIANAS

Con relación a la presencia de hemólisis en algunas cepas de *E. coli* aisladas y su relación con las resistencias antimicrobianas, indicamos que de las 185 cepas de *E. coli* aisladas en las muestras con recuentos superiores a 10^5 UFC/ml y presencia de síntomas urinarios, 30,27% (56 cepas) presentan hemólisis en el medio de agar sangre utilizado para su aislamiento, distribuyéndose las resistencias antimicrobianas para ambas cepas de *E. coli* con hemolisina y sin ella, de la siguiente manera: resistentes a amoxicilina, 71,43%, frente a 53,5% ($p=0,023$). Resistentes a amoxicilina-ác. clavulánico 5,36%, frente a 23,3% ($p=0,003$). Resistentes a cefalotina 25%, frente a 10,9% ($p=0,023$). Resistente a cefuroxina ninguna con hemolisina, frente a 8,5% ($p=0,035$) sin ellas. Resistente al ácido

pipemidico 23,21%, fuente a 9,3% ($p=0,017$). Presentan resistencias a norfloxacino 12,5% con hemolisinas, fuente a 3,9% sin ellas ($p=0,046$).

Resistente a ciprofloxacino 8,93%, fuente a 2,3% (no significativo). Resistente a ofloxacino 8,93%, fuente a 2,3% (no significativo). Resistente a pefloxacino 7,14%, fuente a 2,3% (no significativo). Resistente a fleroxacino 7,14%, fuente a 2,3% (no significativo). Las diferencias de resistencias de ambas cepas con y sin hemolisinas, fuente al ver las antimicrobianas estudiadas: trimetoprim-sulfometoxazol, fosfomicina, gentamicina y tobramicina, tampoco es significativo (véase tabla 10).

TABLA 10 RELACIÓN ENTRE PRESENCIA DE HEMOLISINA Y RESISTENCIA A ANTIMICROBIANOS EN 185 CEPAS DE <i>E. COLI</i> PROCEDENTES DE ITU			
Antimicrobiano	Hemolisina		P
	Positivo (n=56)	Negativo (n=129)	
<i>Ampicilina</i>	71,43	53,5	0,023
<i>Amoxicilina-Ac. clavulánico</i>	05,36	23,3	0,003
<i>Cefalotina</i>	25	10,9	0,023
<i>Cefuroxima</i>	00,00	08,5	0,035
<i>Ac. pipemídico</i>	23,21	09,3	0,017
<i>Norfloxacino</i>	12,50	03,9	0,046
<i>Ciprofloxacino</i>	08,93	02,3	NS
<i>Ofloxacino</i>	08,93	02,3	NS
<i>Pefloxacino</i>	07,14	02,3	NS
<i>Fleroxacino</i>	07,14	02,3	NS
<i>TMT/-SXT</i>	26,78	24,8	NS
<i>Fosfomicina</i>	01,78	05,4	NS
<i>Gentamicina</i>	03,57	03,1	NS
<i>Tobramicina</i>	01,79	02,3	NS

6. ESTUDIO DE SENSIBILIDADES

La distribución de sensibilidades para *E. coli* con relación a todos los antimicrobianos ensayados es la siguiente: tobramicina, 97,7%; gentamicina, 96,5%; ciprofloxacino, 96,5%; pefloxacino, 96,3%; fleroxacino, 96,1%; ofloxacino, 95,9%; fosfomicina, 95,8%; cefuroxima, 93,4%; norfloxacino, 93,1%; ácido pipemídico, 86,9%; cefazolina, 85,1%; amoxicilina-ácido clavulánico, 81,9%; cotrimoxazol, 73,4%; amoxicilina, 43,1% (Fig. 13).

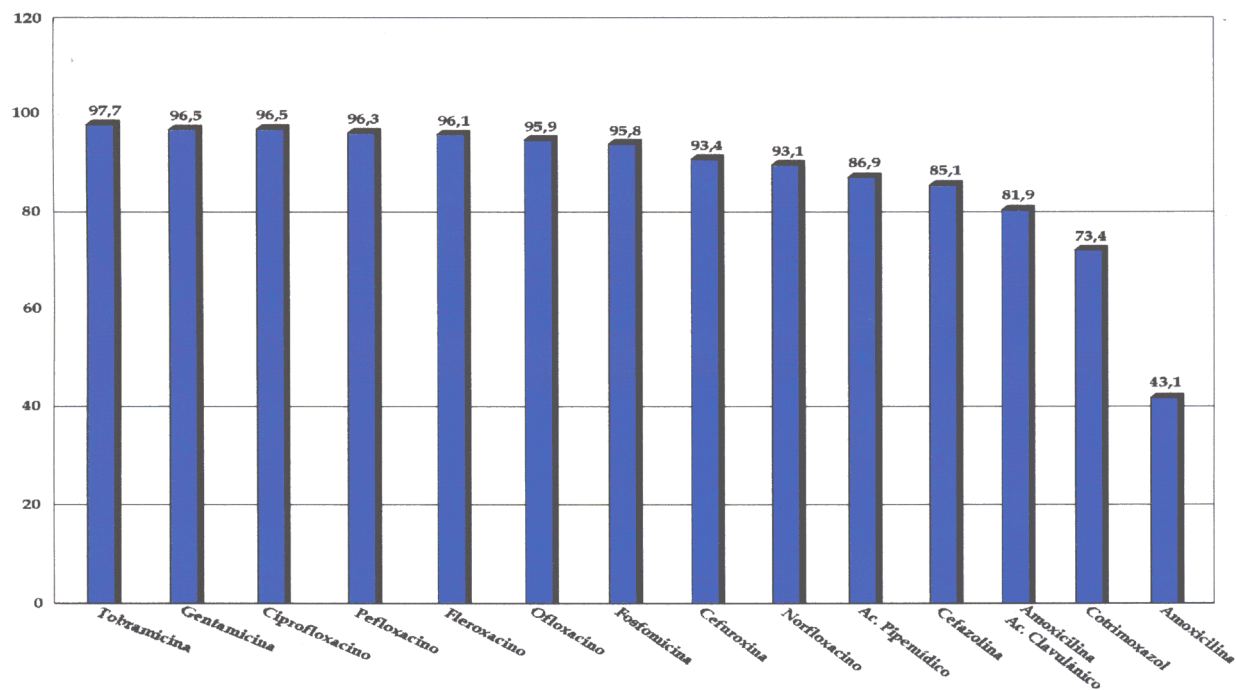


Figura 13

7. DETERMINACIONES DIAGNÓSTICAS

En las muestras analizadas no se detecta albúmina en 184 (81,1%) de los casos que cumplen el gold estándar. Ausencia de glucosa en 219 (96,9%). La acetona está ausente en 223 (98,2%). Urobilinógeno no se encuentra en 212 (93,4%). Sangre no se detecta en 148 (65,2%) de los casos.

Los resultados correspondientes a las otras determinaciones realizadas, como:

1. Aspecto de la orina.
2. Presencia de leucocito-esterasa.
3. Presencia de nitritos.
4. Presencia de más de 10 PMM/c en el sedimento.
5. Presencia de más de una bacteria/c (x40).
6. Presencia de una bacilo/c por la tinción de Gram.
7. Presencia de 5 o más bacilo/c por la tinción de Gram.
8. Aspecto + nitritos + leucocito-esterasa positivo.
9. L.E. + nitritos + Gram (>1B/c).
10. L.E. + nitritos + Gram (>5B/c).
11. L.E. + nitritos + presencia de >10 bacilo/c (x40).
12. Presencia de >10 PMN/C (x40)+ >10 bacilo/c (x40).
13. Nitritos positivos + L.E. positivo.

Se desarrollarán seguidamente indicando de cada prueba su valor porcentual de positivos y negativos en comparación con los parámetros establecidos (véase tabla 11) y los correspondientes valores de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo (véase tabla 12).

7.1. ASPECTOS DE LA ORINA

Presentaban turbidez 173 (76,2%) y eran claras 54 (23,8%), correspondiendo una sensibilidad del 76,2% (70,03-81,49), una especificidad del 59,39% (51,46-66,88); VPP de 72,08 y VPN de 74,47.

TABLA 11
VALORES PORCENTUALES DE LOS PRINCIPALES PARÁMETROS ESTUDIADOS

		> 10 ⁴ UFC/ml + clínica	
		Positivo (%)	Negativo (%)
Aspecto	Turbio	76,20	40,60
	Claro	23,80	59,40
PMM/c	-	33,80	81,80
	>10	66,20	18,20
Nitritos	+	90,30	44,20
	-	09,70	55,80
Hematíes (>10/c)	+	34,80	23,00
	-	65,20	77,00
Bacterias (S.U.) (>5 B/c)	+	97,40	61,20
	-	08,60	38,80
Leuco-esterasa (L.E.)	+	61,70	18,80
	-	38,30	81,20
Gram (>1 B/C)	+	99,20	54,80
	-	00,80	45,20
Gram (>5 B/C)	+	89,80	04,00
	-	10,20	96,00
Aspecto + L.E. + nitritos	+	52,40	11,50
	-	03,50	37,00
S.U.: >5 B/c + > PMN/c	+	64,50	14,50
	-	00,90	35,20
L.E. + nitritos	+	55,90	13,90
	-	04,90	50,90

7.2. PRUEBA DE LEUCOCITO-ESTERASA

El resultado fue positivo en 140 casos (61,7%) y en 87 (38,3%) no fue detectable de todos los que cumplían el gold estándar, correspondiendo una sensibilidad del 61,67% (54,98-67,97), una especificidad del 81,21% (74,23-86,70); VPP, del 81,87, y VPN, del 60,63.

TABLA 12
RESULTADO DE SENSIBILIDAD, ESPECIFICIDAD, VPP Y VPN DE LAS DIFERENTES
PRUEBAS DIAGNÓSTICAS

Prueba diagnóstica		Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN
Aspecto turbio		76,20	59,39	72,08	64,47
Test leucocito-esterasa (+)		61,67	81,21	81,87	60,63
Presencia de nitritos (+)		90,30	55,75	73,74	80,70
S.U.: >10 PMN/c (x40)		66,22	81,81	83,42	63,61
Bacteria (>5B/c)		97,37	38,78	68,82	91,42
Gram: Presencia de > 1 B/c		99,18	45,23	72,45	97,43
Gram: Presencia de > 5 B/c		89,71	96,00	99,09	65,75
Aspecto + L.E. + nitritos		52,42	88,48	86,23	57,48
	2 positivos	79,29	70,90	78,94	71,34
	1 positivo	96,47	36,96	67,80	88,40
L.E. + nitritos + Gram (>1 B/c)		55,06	87,27	85,61	58,53
L.E. + nitritos + Gram (> 5 B/c)		52,86	92,12	90,22	58,68
	2 positivos	91,62	63,03	77,32	84,55
	1 positivo	98,67	45,45	71,33	96,15
L.E. + nitritos + bacteriuria		53,74	86,66	84,72	57,66
	2 positivos	96,03	55,75	74,91	91,08
	1 positivo	99,55	33,30	67,26	98,21
S.U.: >10 PMN/c + >5 B/c		64,47	85,45	85,96	63,51
L.E. + nitritos		55,94	86,06	84,66	58,67

7.3. PRESENCIA DE NITRITOS DETECTABLES

Fue detectable en 205 casos (90,3%) y en 22 (9,7%) no se detectó, presentando una sensibilidad del 90,3% (85,50-93,69); una especificidad del 55,75% (47,83-63,41); VPP, del 73,74, y VPN, del 80,7.

7.4. PRESENCIA DE MÁS DE 10 PMM POR CAMPO EN SEDIMENTO URINARIO (SU)

Se observó cómo en 151 casos (66,2%) estaban presentes en ITUs, mientras que en 77 casos (33,8%) no se detectaba, correspondiendo una sensibilidad del 66,22% (59,63-72,26), y una especificidad del 81,81% (74,89-87,21); el VPP fue del 83,42, y el VPN, del 63,67.

7.5. PRESENCIA DE MÁS DE CINCO BACTERIAS POR CAMPO EN SEDIMENTO URINARIO

Fue detectado en 205 muestras (97,3%) que cumplían las condiciones de ITU y en únicamente 6 muestras (2,6%) no se cumplió. En cambio, es necesario mencionar cómo en 101 muestras (61,2%) se objetivó algún tipo de bacteria sin cumplir los criterios establecidos. La sensibilidad corresponde a 97,37% (94,11-98,93), y la especificidad, del 38,78% (31,4-46,7); el VPP fue del 68,82, y el VPN, del 91,42.

7.6. TINCIÓN DE GRAM (PRESENCIA DE UN BACILO/CAMPO)

Se observó un bacilo/campo en 242 muestras (99,2%) con criterios establecidos positivos y únicamente en 2 (0,8%) no se apreció nada, aunque en 92 muestras (54,8%) sin ITU era objetable esa concentración bacteriana, presentando una sensibilidad del 99,18% (96,74-99,85), y una especificidad del 45,23% (37,61-53,08); el VPP correspondiente es 72,45, y el VPN, 97,43.

7.7. TINCIÓN DE GRAM (PRESENCIA DE >5 BACILOS/CAMPO)

En 218 muestras (89,7%) se cumplió el criterio de ITU y en 26 muestras (10,6%) con más de 5 bacilos/campo no presentaba criterios adecuados, presentando una sensibilidad del 89,71% (85,01-93,10), y una especificidad del 96,00% (85,14-99,30); el VPP correspondiente es 99,09, y el VPN, 65,07.

7.8. ASPECTO TURBIO CON LEUCOCITO-ESTERASA Y NITRITOS POSITIVOS

Las tres determinaciones resultaron positivas en 119 pacientes (52,4%) que cumplieron los criterios y en 19 (11,5%) que no los cumplieron. En cambio, ninguna de las tres determinaciones fueron positivas en 8 casos (3,5%) con criterios de ITU y 61 casos (37%) de los establecidos como no infectados, correspondiendo una sensibilidad del 52,42% (45,72-59,04), una especificidad del 88,42% (82,36-92,74), con VPP del 86,23 y VPN 57,48% para cuando las tres determinaciones son positivas. Si, en cambio, tomamos dos como positivas, la sensibilidad correspondería a 79,29% (73,32-84,24%); la especificidad sería 70,9% (63,24-77,57%), con VPP del 78,94% y VPN del 71,34%. Por último, si únicamente obtenemos positivo uno de los tres, la sensibilidad sería del 96,47% (92,91-98,35%), y la especificidad, del 36,96% (29,69-44,86), con VPP del 67,8% y VPN del 88,4%.

7.9. REACCIONES DE LEUCOCITO-ESTERASA Y NITRITOS POSITIVOS ASOCIADOS A LA PRESENCIA DE UN BACILO/CAMPO EN EL GRAM

En 125 muestras (55,1%) se observaron los tres parámetros con criterios de ITU y en 21 (12,7%) no se cumplieron los parámetros de ITU, presentando una sensibilidad del

55,06% (48,34-61,61%) y una especificidad del 87,27% (80,98-91,76%), con VPP del 85,61% y VPN del 58,53% para el caso de que los tres parámetros sean positivos. Si, en cambio, son dos los positivos, la sensibilidad corresponde al 96,03% (92,35-98,05%); la especificidad resulta 57,57% (49,68-65,15%), con VPP del 75,69% y VPN del 91,34%. Con un solo parámetro positivo la sensibilidad es del 100 (97,92-99,95); la especificidad, del 38,18% (30,83-46,09), con VPP del 68,99 y VPN del 100.

7.10. REACCIONES DE LEUCOCITO-ESTERASA Y NITRITOS POSITIVOS ASOCIADOS

A > 5 BACILOS/CAMPO EN EL GRAM

En 120 muestras (52,9%) se observaron los tres parámetros con criterio de ITU y en 13 muestras (7,9%) no se cumplían dichos criterios, presentando una sensibilidad del 52,86% (46,15-59,47) y una especificidad del 92,12% (86,62-95,56), con VPP del 90,22 y VPN del 58,68.

Tomando dos valores positivos, la sensibilidad es del 91,62% (87,03-94,75); la especificidad, del 63,03% (55,13-70,30), correspondiendo un VPP del 77,32% y VPN del 84,55%. Si, por último, únicamente se valora con una de las tres pruebas positivas, encontramos una sensibilidad del 98,67% (95,86-99,65); la especificidad es del 63,03% (55,13-70,30), el VPP corresponde a 71,33%, y el VPN, a 96,15%.

7.11. REACCIONES DE LEUCOCITO-ESTERASA Y NITRITOS POSITIVOS CON PRESENCIA DE BACTERIAS EN SEDIMENTO URINARIO

En 120 muestras (53,7%) se obtuvieron resultados positivos con criterios de ITU establecidos y en 22 muestras (13,3%) con igual positivo no se cumplieron dichos crite-

rios, presentando una sensibilidad de 53,74% (47,02-60,33) y especificidad del 86,66% (80,29-91,27), con VPP de 84,72 y VPN de 57,66. Si la valoración fuera únicamente con dos de estas pruebas cualesquiera positivas, la sensibilidad sería de 96,03% (92,35-98,05) y la especificidad de 55,75% (47,83-63,41), con VPP de 74,91 y VPN de 91,08. Por último, si se valoran cuando únicamente uno de los tres parámetros sea positivo, la sensibilidad resultaría 99,55% (97,18-99,97) y la especificidad del 33,3% (26,31-41,14), con VPP del 67,26 y VPN del 98,21.

7.12. SEDIMENTO URINARIO CON >10 PMN/C Y >5 BACILOS/C

En 147 muestras (64,5%) existían criterios de ITU y en 24 casos (14,5%) no estaban presentes esos criterios. En 81 casos con ITU no existían ambos criterios y en 226 casos (99,1%) se detectaba uno de los dos datos. La sensibilidad corresponde a 64,47% (57,84-70,6); la especificidad es del 85,45% (78,92-90,27); el VPP es 85,96, y el VPN es 63,51.

Tomando un solo parámetro como positivo, la sensibilidad es 99,12% (96,52-99,84); la especificidad, del 35,15% (27,99-43,01), con VPP del 67,86 y VPN del 96,66.

7.13. PRESENCIA DE LEUCOCITO-ESTERASA Y NITRITOS

Esta asociación de determinaciones se cumple en 127 casos (55,9%), no cumpliéndose en 23 casos (13,9%). Todas son negativas en 9 pacientes (4%) con ITU. Una de las dos pruebas es positiva en 91 casos (40,1%) de ITUs y en 58 (35,2%) de casos ausentes de las condiciones establecidas. La sensibilidad corresponde al 55,94% (49,22-62,46); la especificidad es 86,06% (79,6-90,77); el VPP es 84,66, y el VPN es 58,67.

TABLA 13

RELACIÓN DE CMI Y CMB A LAS ANTIMICROBIANAS EN ESTUDIO FRENTE A *E. COLI* ATCC 25922, *E. COLI* AISLADO CLÍNICO (HEMOLISINA +) Y *E. COLI* NCTC 11560

Microorganismo	Antimicrobiano	CMI (mg/l)	CMB (mg/l)
<i>E. coli</i> ATCC 25922	Ciprofloxacino	0,015	0,015
	Ofloxacino	0,060	0,060
	Pefloxacino	0,060	0,060
	Fleroxacino	0,120	0,120
	Norfloxacino	0,120	0,120
	Amoxicilina-ácido clavulánico	2/1	2/1
	Cefuroxima-axetil	2,000	2,000
	Cotrimoxazol	0,250	0,250
	Fosfomicina	4,000	4,000
<i>E. coli</i> Aislado clínico (hemolisina +)	Ciprofloxacino	0,015	0,015
	Ofloxacino	0,060	0,060
	Pefloxacino	0,060	0,060
	Fleroxacino	0,120	0,120
	Norfloxacino	0,120	0,120
	Amoxicilina-ácido clavulánico	2/1	2/1
	Cefuroxima-axetil	2,000	2,000
	Cotrimoxazol	0,250	0,250
	Fosfomicina	4,000	4,000
<i>E. coli</i> NCTC 11560 (portador de β lactamasa TEM-1)	Ciprofloxacino	0,015	0,015
	Ofloxacino	0,060	0,060
	Pefloxacino	0,060	0,060
	Fleroxacino	0,120	0,120
	Norfloxacino	0,120	0,120
	Amoxicilina-ácido clavulánico	2/1	2/1
	Cefuroxima-Axetil	2,000	2,000
	Cotrimoxazol	0,250	0,250
	Fosfomicina	4,000	4,000

Valorando únicamente una de las dos pruebas positivas, la sensibilidad resultaría del 96,03% (92,35-98,05); la especificidad es 50,9% (43,04-58,72), con VPP del 72,9 y VPN del 90,32.

Los valores porcentuales de los principales parámetros estudiados se pueden globalmente observar en la tabla 11.

8. DETERMINACIÓN DE CMI Y DE LA CMB

La tabla 13 refleja los valores obtenidos en la determinación de la CMI y de la CMB de los antimicrobianos y cepas ensayadas.

1. Para *E. coli* ATCC 25922 la CMI y CMB frente a ciprofloxacino es de 0,015 mg/l; frente a ofloxacino correspondió a 0,06 mg/l; para pefloxacino, 0,06 mg/l; con fleroxacinó resultó 0,120 mg/l; con norfloxacino, de 0,120 mg/l; con amoxicilina-ácido clavulánico, 4/2 mg/l; para cotrimoxazol, 0,25 mg/l; con cefuroxima obtuvimos 0,25 mg/l; para fosfomicina la CMI correspondió a 4 mg/l, y la CMB, 8 mg/l.

2. Para *E. coli* con betalactamasa TEM 1, la CMI y CMB frente a ciprofloxacino es de 0,015 mg/l; frente a ofloxacino correspondió a 0,06 mg/l; para pefloxacino, 0,06 mg/l; con fleroxacinó resultó 0,120 mg/l; con norfloxacino, de 0,120 mg/l; con amoxi-clavulánico (1/2) resultó 8/4 mg/l; para cotrimoxazol, 0,25 mg/l.

Con cefuroxima obtuvimos 0,25 mg/l; para fosfomicina la CMI correspondió a 4 mg/l, y la CMB, 8 mg/l. En este caso se midió la CMI de amoxicilina, correspondiendo a más de 2,048 mg/l.

TABLA 14

RELACIÓN DE EPA CORRESPONDIENTES A LAS ANTIMICROBIANAS EN ESTUDIO
A CONCENTRACIONES DE CMI Y 10 CMI FRENTE A *E. coli* ATCC 25922, *E. coli* AISLADO
CLÍNICO Y *E. coli* NCTC 11560

Microorganismo	Antimicrobiano	EPA (horas) CMI	EPA (horas) 10 CMI
<i>E. coli</i> ATCC 25922	Ciprofloxacino	2,4 ± 0,3	4,3 ± 0,3
	Ofloxacino	1,8 ± 0,3	3,6 ± 0,2
	Pefloxacino	1,8 ± 0,2	2,2 ± 0,2
	Fleroxacino	1,4 ± 0,2	2,0 ± 0,2
	Norfloxacino	0,5 ± 0,1	1,0 ± 0,2
	Amoxicilina-ácido clavulánico	0	0,3 ± 0,05
	Cefuroxima-axetil	0	0
	Cotrimoxazol	0	0
	Fosfomicina	0	0
<i>E. coli</i> Aislado clínico (hemolisina +)	Ciprofloxacino	2,2 ± 0,2	4,2 ± 0,2
	Ofloxacino	1,7 ± 0,2	3,5 ± 0,2
	Pefloxacino	1,7 ± 0,2	2,3 ± 0,2
	Fleroxacino	1,5 ± 0,2	2,1 ± 0,2
	Norfloxacino	0,6 ± 0,2	1,0 ± 0,2
	Amoxicilina-ácido clavulánico	0	0,3 ± 0,05
	Cefuroxima-axetil	0	0
	Cotrimoxazol	0	0
	Fosfomicina	0	0
<i>E. coli</i> NCTC 11560 (portador de β lactamasa TEM-1)	Ciprofloxacino	2,2 ± 0,2	4,2 ± 0,2
	Ofloxacino	1,8 ± 0,2	3,5 ± 0,1
	Pefloxacino	1,7 ± 0,2	2,2 ± 0,2
	Fleroxacino	1,5 ± 0,2	2,1 ± 0,2
	Norfloxacino	0,5 ± 0,2	1,0 ± 0,1
	Amoxicilina-ácido clavulánico	0	0,3 ± 0,05
	Cefuroxima-axetil	0	0
	Cotrimoxazol	0	0
	Fosfomicina	0	0

3. Para *E. coli* aislado clínico se obtuvieron los siguientes resultados, coincidiendo la CMI y la CMB: para ciprofloxacino, 0,015 mg/l; para pefloxacino, 0,06 mg/l; con fleroxacinó resultó 0,120 mg/l; con norfloxacino, de 0,120 mg/l; con amoxicilina-ácido clavulánico (1/2), 4/2 mg/l; para cotrimoxazol, 0,25 mg/l; con cefuroxima obtuvimos 0,25 mg/l; para fosfomicina, 4 mg/l.

9. EFECTO POSTANTIBIÓTICO

La tabla 14 indica los valores de EPA de los antimicrobianos ensayados frente a las cepas *E. coli* ATCC 25922, *E. coli* portador de betalactamasa TEM-1 y *E. coli* aislado clínico.

9.1. EPA DE CIPROFLOXACINO

9.1.1. Frente a *E. coli* ATCC 25922

El gráfico 4 refleja el estudio del efecto postantibiótico.

Con una concentración de 0,015 mg/l fue de 2,4 horas, y para 0,15 mg/l fue de 4,3 horas.

9.1.2. Frente a *E. coli* aislado clínico (hemolisina +)

El gráfico 5 refleja el estudio del efecto postantibiótico.

Con una concentración de 0,015 mg/l fue de 2,2 horas, y para 0,15 mg/l, 4,2 horas.

9.1.3. Frente a *E. coli* NCTC 11560

El gráfico 6 refleja el estudio del efecto postantibiótico.

Con una concentración de 0,015 mg/l fue de 2,2 horas, y para 0,15 mg/l fue de 4,2 horas.

9.2. EPA DE OFLOXACINO

9.2.1. Frente a *E. coli* ATCC 25922

El gráfico 10 refleja el estudio del efecto postantibiótico.

Con una concentración de 0,06 mg/l fue de 1,8 horas, y con una concentración de 0,6 mg/l, de 3,6 horas.

9.2.2. Frente a *E. coli* aislado clínico (hemolisina +)

El gráfico 11 refleja el estudio del efecto postantibiótico.

Con una concentración de 0,06 mg/l fue de 1,7 horas, y con 0,6 mg/l, de 3,5 horas.

9.2.3. Frente a *E. coli* NCTC 11560

El gráfico 12 refleja el estudio del efecto postantibiótico.

Con una concentración de 0,06 mg/l fue de 1,8 horas, y con 0,6 mg/l, de 3,5 horas.

9.3. EPA DE PEFLOXACINO

9.3.1. Frente a *E.coli* ATCC 25922

El gráfico 16 refleja el estudio del efecto postantibiótico.

Con una concentración de 0,06 mg/l fue de 1,8 horas, y con 0,6 mg/l, de 2,2 horas.

9.3.2. Frente a *E. coli* aislado clínico (hemolisina +)

El gráfico 17 refleja el estudio del efecto postantibiótico.

Con una concentración de 0,06 mg/l fue de 1,7 horas, y con 0,6 mg/l, de 2,3 horas.

9.3.3. Frente a *E. coli* NCTC 11560

El gráfico 18 refleja el estudio del efecto postantibiótico.

Con una concentración de 0,06 mg/l fue de 1,7 horas, y con 0,6 mg/l, de 2,2 horas.

9.4. EPA DE FLEROXACINO

9.4.1. Frente a *E. coli* ATCC 25922

El gráfico 22 refleja el estudio del efecto postantibiótico.

Con la concentración de 0,12 mg/l fue de 1,8 horas, y con 1,2 mg/l, de 2,2 horas.

9.4.2. Frente a *E. coli* aislado clínico (hemolisina +)

El gráfico 23 refleja el estudio del efecto postantibiótico.

Con la concentración de 0,12 mg/l fue de 1,5 horas, y con 1,2 mg/l, de 2,1 horas.

9.4.3. Frente a *E. coli* NCTC 11560

El gráfico 24 refleja el estudio del efecto postantibiótico.

Con la concentración de 0,12 mg/l fue de 1,5 horas, y con 1,2 mg/l, de 2,1 horas.

9.5. EPA DE NORFLOXACINO

9.5.1. Frente a *E. coli* ATCC 25922

El gráfico 28 refleja el estudio del efecto postantibiótico.

Con la concentración de 0,12 mg/l fue de 0,5 horas, y con 1,2 mg/l, de 1 hora.

9.5.2. Frente a *E. coli* aislado clínico (hemolisina +)

El gráfico 29 refleja el estudio del efecto postantibiótico.

Con la concentración de 0,12 mg/l fue de 0,6 horas, y con 1,2 mg/l, de 1 hora.

9.5.3. Frente a *E. coli* NCTC 11560

El gráfico 30 refleja el estudio del efecto postantibiótico.

Con la concentración de 0,12 mg/l fue de 0,5 horas, y con 1,2 mg/l, de 1 hora.

9.6. EPA DE AMOXICILINA-ÁCIDO CLAVULÁNICO

9.6.1. Frente a *E. coli* ATCC 25922

El gráfico 34 refleja el estudio del efecto postantibiótico.

Con la concentración de 4/2 mg/l no se detecta EPA, y con 40/20 mg/l era de 0,30 horas.

9.6.2. Frente a *E. coli* aislado clínico (hemolisina +)

El gráfico 35 refleja el estudio del efecto postantibiótico.

Con la concentración de 4/2 mg/l no se detecta EPA, y con 40/20 mg/l era de 0,30 horas.

9.6.3. Frente a *E. coli* NCTC 11560

El gráfico 36 refleja el estudio del efecto postantibiótico.

Con la concentración de 4/2 mg/l no se detecta EPA, y con 40/20 mg/l era de 0,2 horas.

9.7. EPA DE CEFUROXIMA-AXETIL**9.7.1. Frente a *E. coli* ATCC 25922**

El gráfico 40 refleja el estudio del efecto postantibiótico.

No es detectado EPA a concentraciones de 2 mg/l ni con 20 mg/l.

9.7.2. Frente a *E. coli* aislado clínico (hemolisina +)

El gráfico 41 refleja el estudio del efecto postantibiótico.

A concentraciones de 2 mg/l y de 20 mg/l no se detecta EPA.

9.7.3. Frente a *E. coli* NCTC 11560

El gráfico 42 refleja el estudio del efecto postantibiótico.

A concentraciones de 2 mg/l y de 20 mg/l no se detecta EPA.

9.8. EPA DE TRIMETOPRIM-SULFAMETOXAZOL**9.8.1. Frente a *E. coli* ATCC 25922**

El gráfico 46 refleja el estudio del efecto postantibiótico.

A concentraciones de 0,25 mg/l y de 2,5 mg/l no se detecta EPA.

9.8.2. Frente a *E. coli* aislado clínico (hemolisina +)

El gráfico 47 refleja el estudio del efecto postantibiótico.

A concentraciones de 0,25 mg/l y de 2,5 mg/l no se detecta EPA.

9.8.3. Frente a *E. coli* NCTC 11560

El gráfico 48 refleja el estudio del efecto postantibiótico.

A concentraciones de 0,25 mg/l y de 2,5 mg/l no se detecta EPA.

9.9. EPA DE FOSFOMICINA**9.9.1. Frente a *E. coli* ATCC 25922**

El gráfico 52 refleja el estudio del efecto postantibiótico.

A concentraciones de 4 mg/l y de 40 mg/l no se detecta EPA.

9.9.2. Frente a *E. coli* aislado clínico (hemolisina +)

El gráfico 53 refleja el estudio del efecto postantibiótico.

A concentraciones de 4 mg/l y de 40 mg/l no se detecta EPA.

9.9.3. Frente a *E. coli* NCTC 11560

El gráfico 54 refleja el estudio del efecto postantibiótico.

A concentraciones de 4 mg/l y de 40 mg/l no se detecta EPA.

10. NIVELES ANTIMICROBIANOS EN ORINA

Los niveles urinarios de norfloxacinó se expresan individualizadas por cada voluntario (véase gráficos del 55 al 66). Se puede apreciar cómo posee una concentración a las 48 horas de 2,94 mcg/ml, correspondiendo a 23,5 veces la CMI. Se observa un pico en las 0-4 primeras horas que oscila entre 193,3 mcg/ml en las 0-2 horas y 180,6 mcg/ml a las 2-4 horas, para después ir descendiendo hasta alcanzar concentraciones indetectables a las 60-72 horas (véase gráfico valores medios n.º 67).

11. PODERES BACTERICIDAS URINARIOS DE NORFLOXACINO

Observando la gráfica n.º 67 podemos apreciar cómo el título bactericida de norfloxacinó en orina frente a *E. coli* varió de 368 a las dos horas y de 8,5 a las 36 horas.

Los valores de pH obtenidos en los voluntarios presentaron una pequeña oscilación de estos valores, fluctuando de 5,1 a 6,8 como valores medios.

No se observa ningún incremento en la capacidad bactericida del fármaco en relación al pH. El título bactericida sólo varía en relación con la concentración, implicando una actividad bactericida de la orina.

12. FARMACOECONOMÍA

12.1. COSTES DEL DIAGNÓSTICO DE ITU EXTRAHOSPITALARIO

En la tabla 15 podemos observar los precios en pesetas correspondientes a cada una de las pruebas diagnósticas de ITU realizadas, obteniendo como valor medio los siguientes resultados:

El sedimento urinario es valorado en 133 pesetas. La tira reactiva, que incluye, entre otros parámetros, nitritos y leucocito-esterasas, 143 pesetas. Al sedimento urinario con la tira reactiva corresponde un precio medio de 297 pesetas. La tinción de Gram es valorada en 241 pesetas, y el cultivo de orina alcanza un precio medio de 2.113 pesetas.

12.2. COSTES DE TRATAMIENTO DE ITU EXTRAHOSPITALARIO

Con relación al estudio de costes del tratamiento con los diferentes antimicrobianos utilizables en ITUs centramos el estudio en el coste/dosis y coste correspondiente a tres

TABLA 15 RELACIONES DEL COSTE/DIAGNÓSTICO CORRESPONDIENTE A TRES SOCIEDADES MÉDICAS				
Determinación analítica	Tarifa Asisa (ptas.)	Tarifa Caja-Salud (ptas.)	Tarifa MGD (ptas.)	Tarifa media (ptas.)
Sedimento urinario	139	130	130	133
Tira reactiva	190	120	130	143
Sedim. + tira reactiva	300	240	350	297
Tinción de Gram	214	180	330	241
Cultivo de orina	2.140	2.000	2.200	2113

días de tratamiento, al ser el tiempo de mayor garantía de efectividad y cumplimiento por parte del paciente (tabla 16).

El trimetoprim-sulfametoxazol, en su presentación Forte, posee una concentración por dosis de 160/800 mg, respectivamente.

El precio por cada dosis es de 17 pesetas, siendo necesarias seis dosis para tres días, con un precio total de 177 pesetas, aunque el envase comercial con 20 comprimidos es de 597 pesetas.

El ácido pipemídico posee una concentración de 400 mg por dosis, con precio de 88 pesetas/dosis. Seis dosis son necesarias para los tres días de tratamiento, con un precio total de 528 pesetas, siendo el envase comercial de 10 comprimidos, con un precio en el mercado de 837 pesetas.

TABLA 16 RELACIÓN DE COSTES TRATAMIENTOS/DÍA Y COSTE GLOBAL					
	Dosis (mg)	Coste dosis (ptas.)	N.º dosis (3 días)	Precio envase (dosis)	Precio tto. (3 días)
Trimetoprim-sulfamet. Forte	160/80	29,9	6	597 (20 d)	179
Ácido pipemídico	400	88	6	837 (10 d)	528
Fosfomicina	500	83	9	992 (12 d)	744
Norfloxacino	400	151	6	2.087 (14 d)	906
Amoxicilina-ác. clavulánico	500	102	9	1.165 (12 d)	908
Fosfomicina-trometamol	4.000	---	2	1.195 (2/2 g)	1.195
Ofloxacino	200	204	6	1.118 (10 d)	1.204
Pefloxacino	400	---	2	1.288 (2 d)	1.288
Cefuroxima-axetilo	250	230	6	2.765 (12 d)	1.380
Ciprofloxacino	250	230	6	2.297 (10 d)	1.378

La fosfomicina tiene dos presentaciones: una es la asociación de fosfomicina-trometamol con presentación de uno o dos sobres de tres gramos, con precio de 895 y 1.195 pesetas, respectivamente. En este caso el precio del tratamiento sería de 1.195 pesetas si no confiamos en la monodosis. La otra presentación de la fosfomicina corresponde a fosfomicina sin otra asociación en comprimidos de 500 mg, cuyo precio es de 87 pesetas dosis. Son necesarias nueve dosis los tres días, obteniéndose un precio global de 774 pesetas para tres días de tratamiento. La presentación comercial es de 12 comprimidos, a un precio de 992 pesetas.

Amoxicilina-ácido clavulánico se presenta en dosis de 500 mg, a un precio de 102 pesetas/dosis. Son necesarias nueve dosis, resultando un precio de 908 pesetas/tres días de tratamiento. La presentación son 12 comprimidos de 500 mg, con un precio de 1.165 pesetas.

Norfloxacino se presenta en forma de 400 mg/dosis, con un precio por dosis de 151 pesetas. Son necesarias seis dosis para el tratamiento establecido, resultando un precio de 906 pesetas para tres días de tratamiento. La presentación comercial es de 14 comprimidos, con un precio de 2.087 pesetas.

Ofloxacino se presenta comercialmente en envase con 10 comprimidos de 200 mg, a un precio total de 1.918. El precio/dosis es de 204 pesetas. Son necesarias seis dosis, resultando a 1.204 pesetas los tres días de tratamiento.

Pefloxacino se presenta en forma de dos comprimidos de 400 mg cada uno para su administración en monodosis, con un precio de 1.288 pesetas.

Cefuroxima-axetilo se presenta comercialmente en forma de 12 comprimidos de 250 mg, con precio de 2.765 pesetas. El precio/dosis corresponde a 230 pesetas. Son necesarias seis dosis para los tres días de tratamiento, resultando 1.380 pesetas.

Para el proceso del ciprofloxacino, la presentación que resulta más económica es la de 10 comprimidos de 250 mg, que tiene un precio de 2.297 pesetas. El precio por dosis es de 230 pesetas, siendo necesarias seis dosis para los tres días de tratamiento; éste resulta por 1.378 pesetas.

V. Gráficos

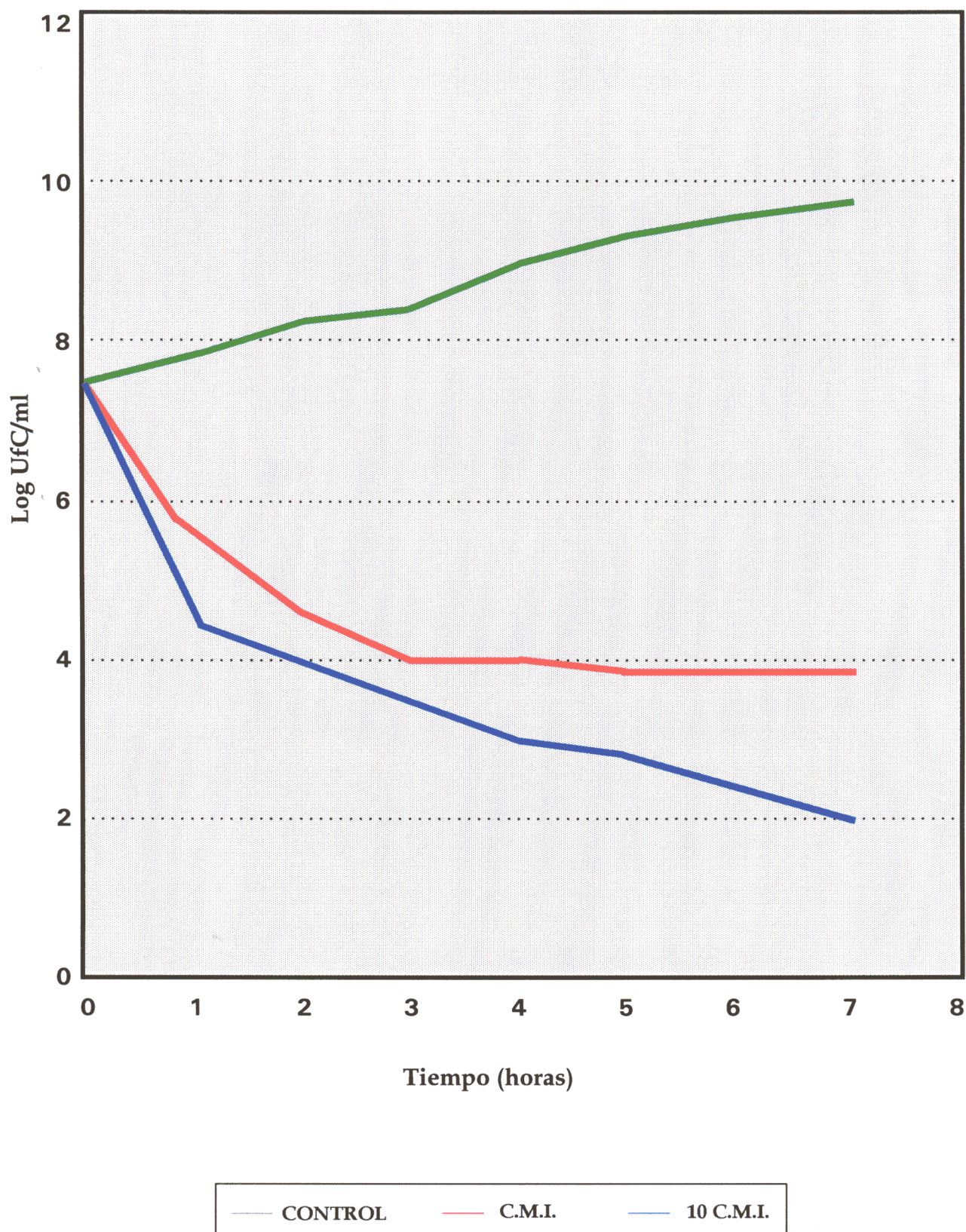


Gráfico n.º 1. Curva de crecimiento y letalidad de *E. coli* ATCC 25922 frente a ciprofloxacino.

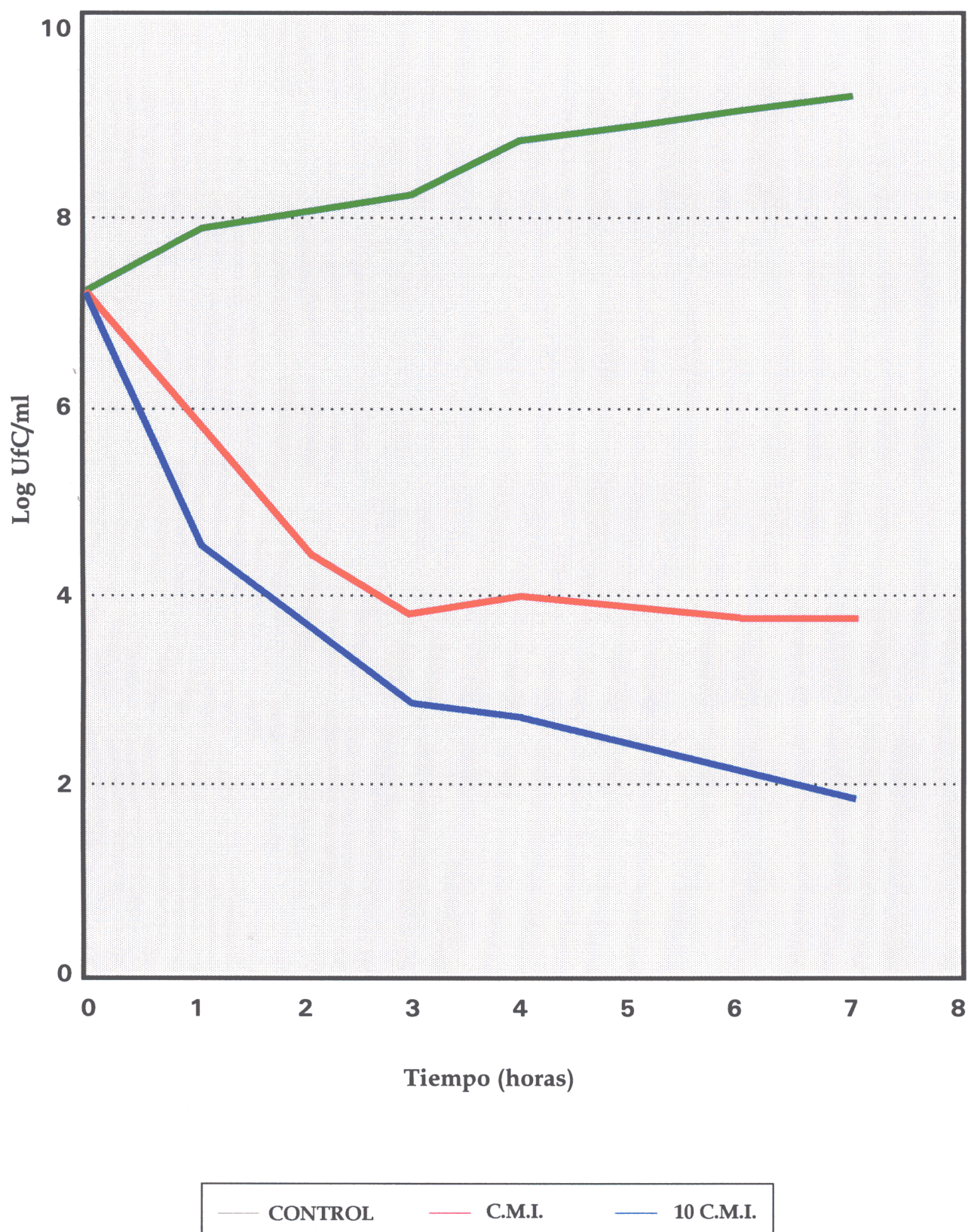


Gráfico n.º 2. Curva de crecimiento y letalidad de *E. coli* (hemolisina +) frente a ciprofloxacino.

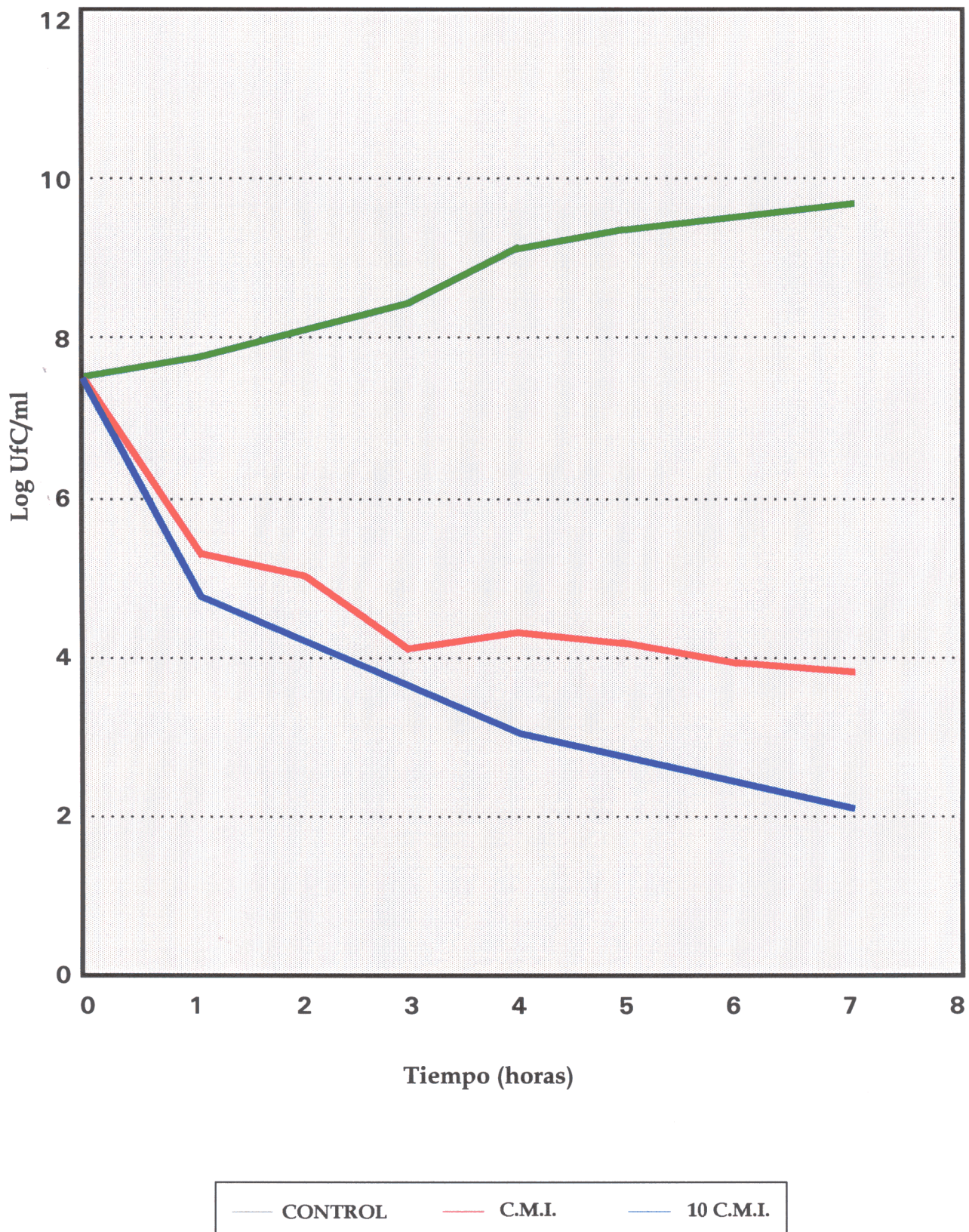


Gráfico n.º 3. Curva de crecimiento y letalidad de *E. coli* NCTC 11560 (productor de TEM 1) frente a ciprofloxacino.

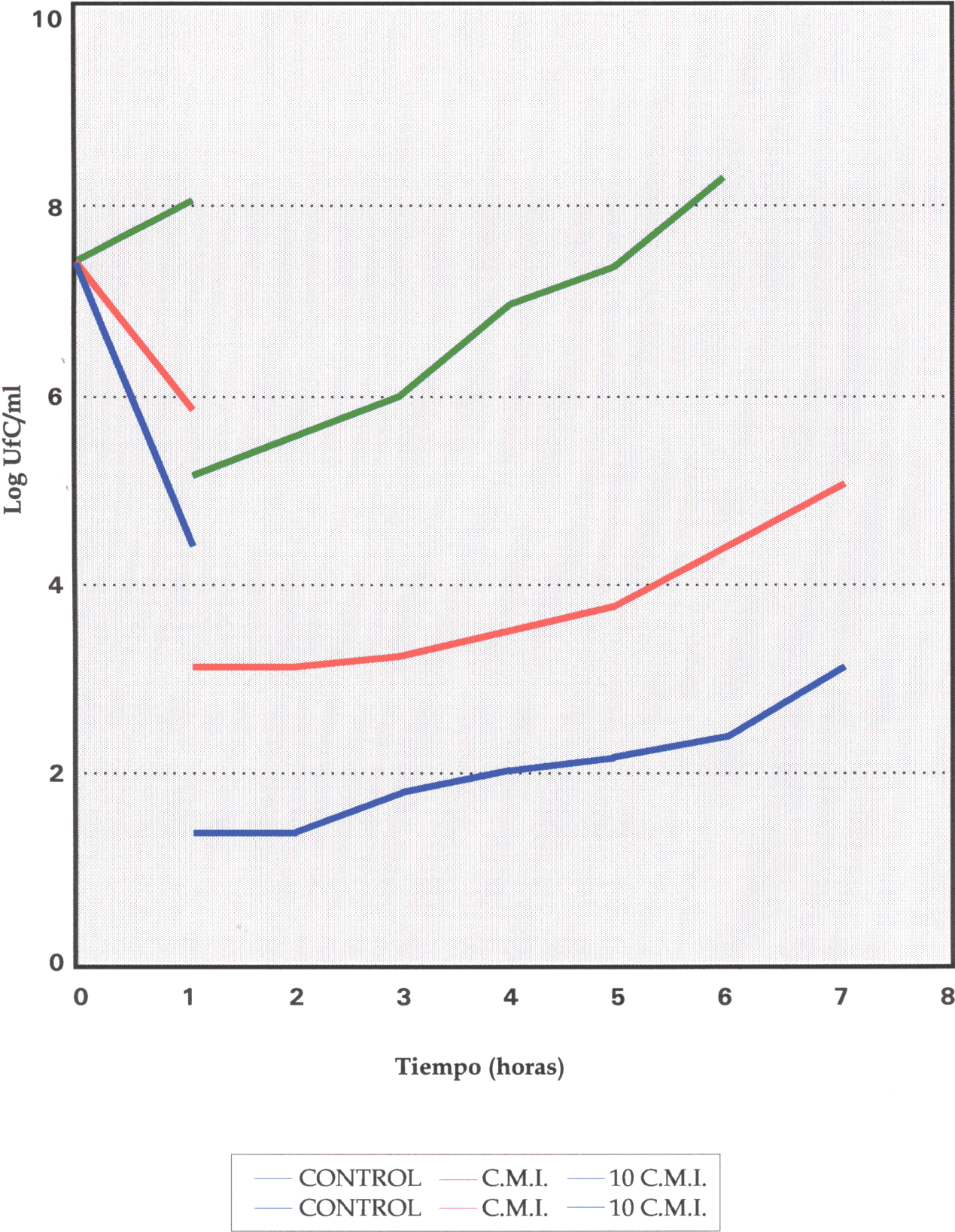


Gráfico n.º 4. Curva de EPA de ciprofloxacino frente a *E. coli* ATCC 25922.

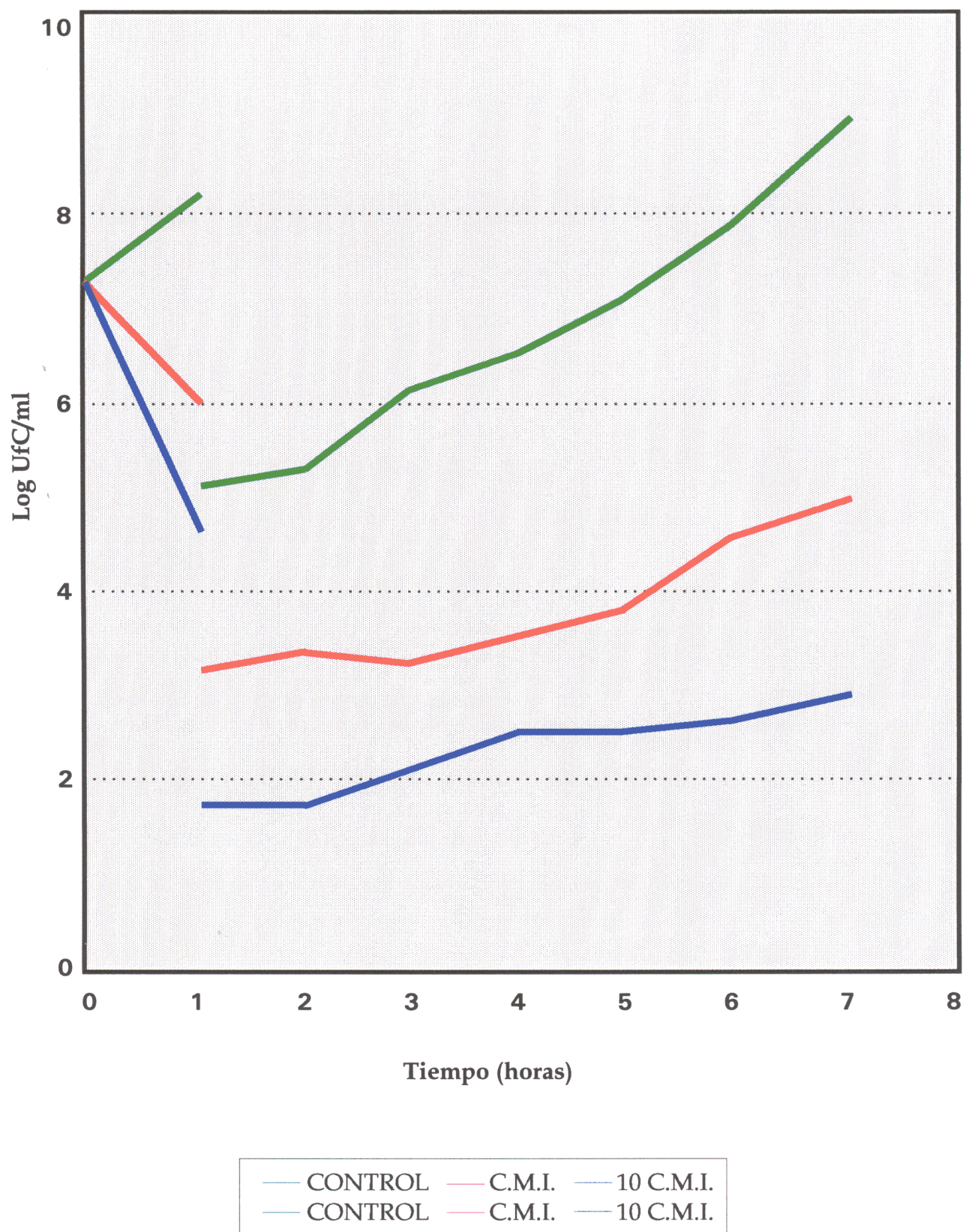


Gráfico n.º 5. Curva de EPA de ciprofloxacino frente a *E. coli* (hemolisina +).

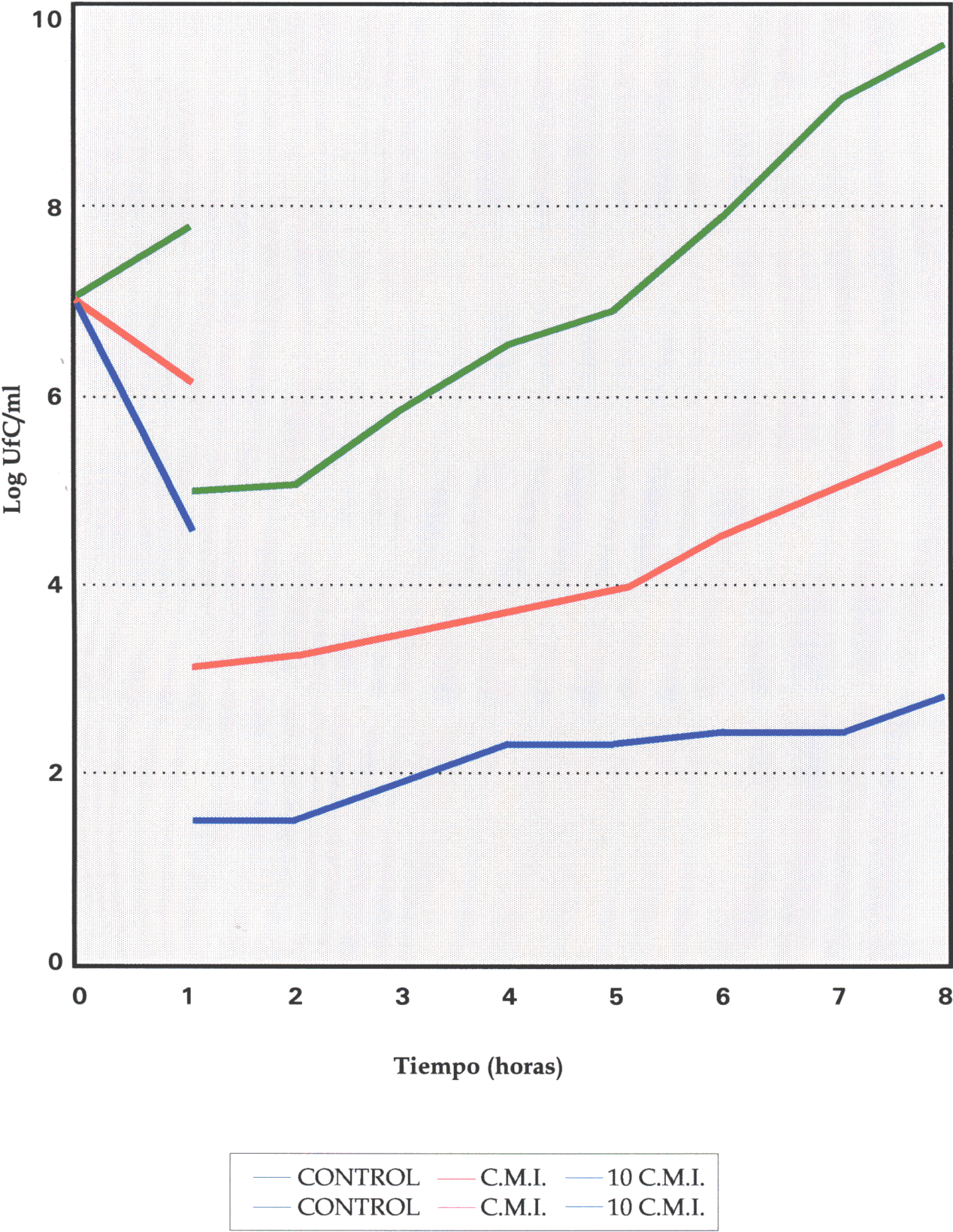


Gráfico n.º 6. Curva de EPA de ciprofloxacino frente a *E. coli* (productor de TEM 1).

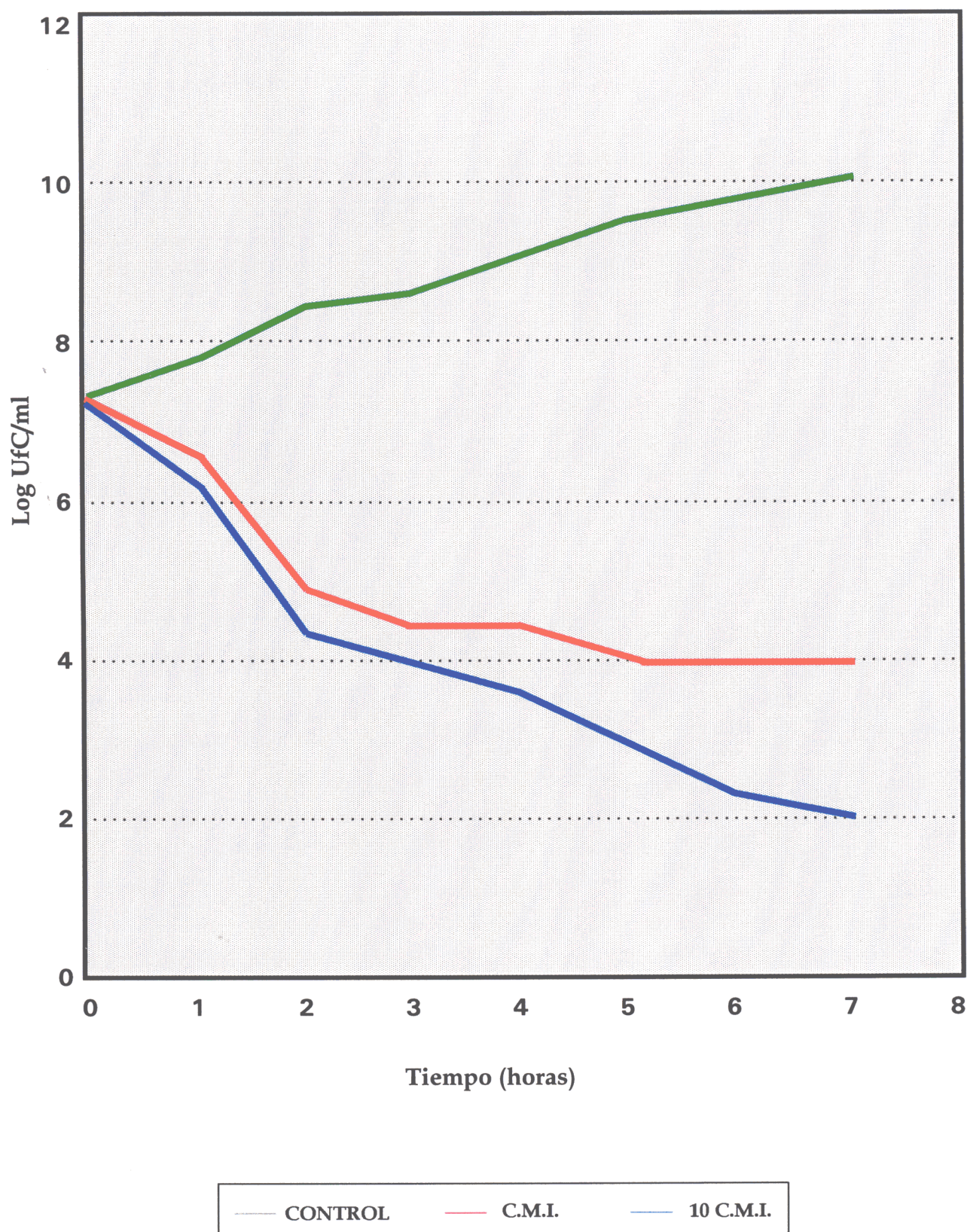


Gráfico n.º 7. Curva de crecimiento y letalidad de *E. coli* ATCC 25922 frente a ofloxacino.

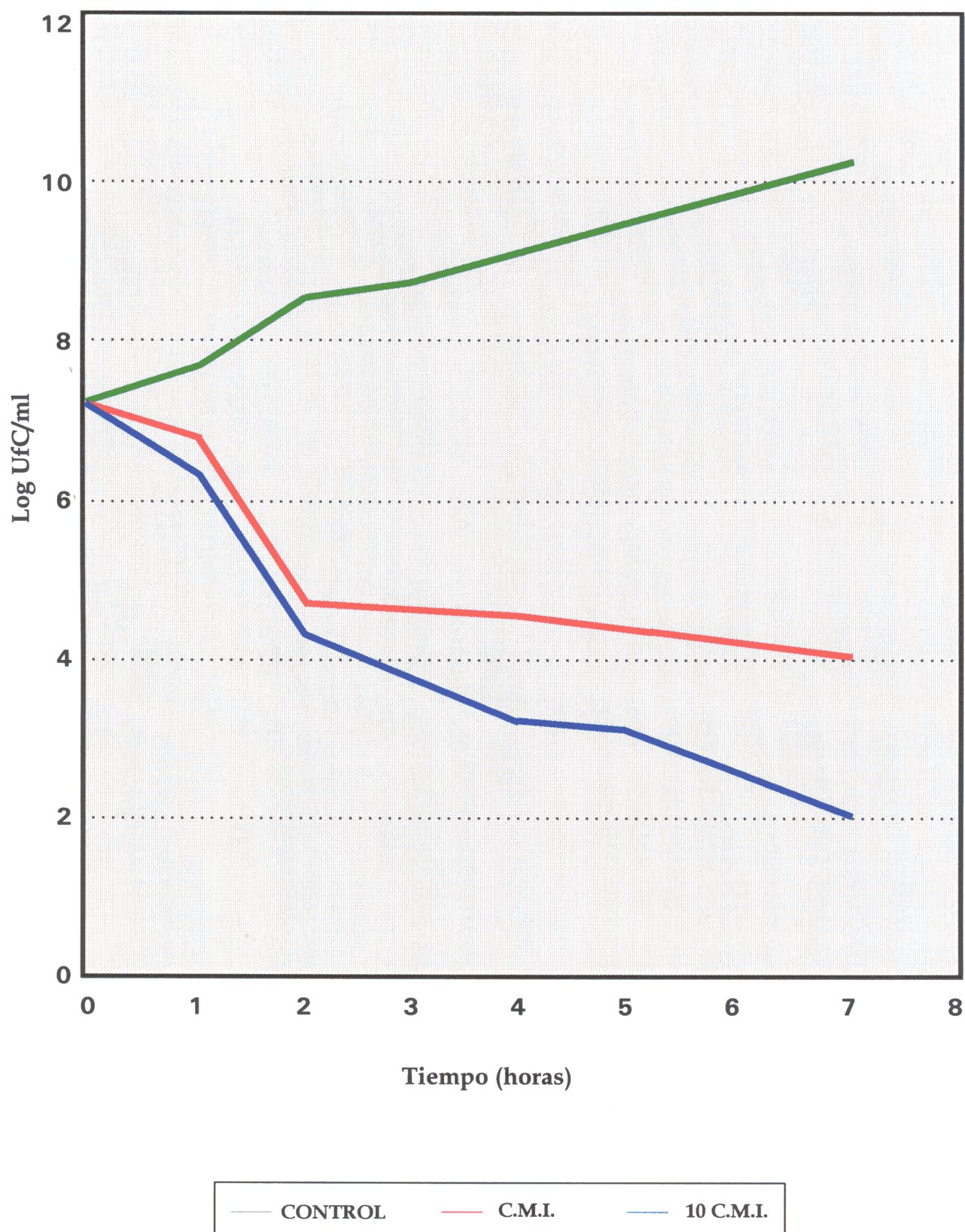


Gráfico n.º 8. Curva de crecimiento y letalidad de *E. coli* (hemolisina +) frente a ofloxacino.

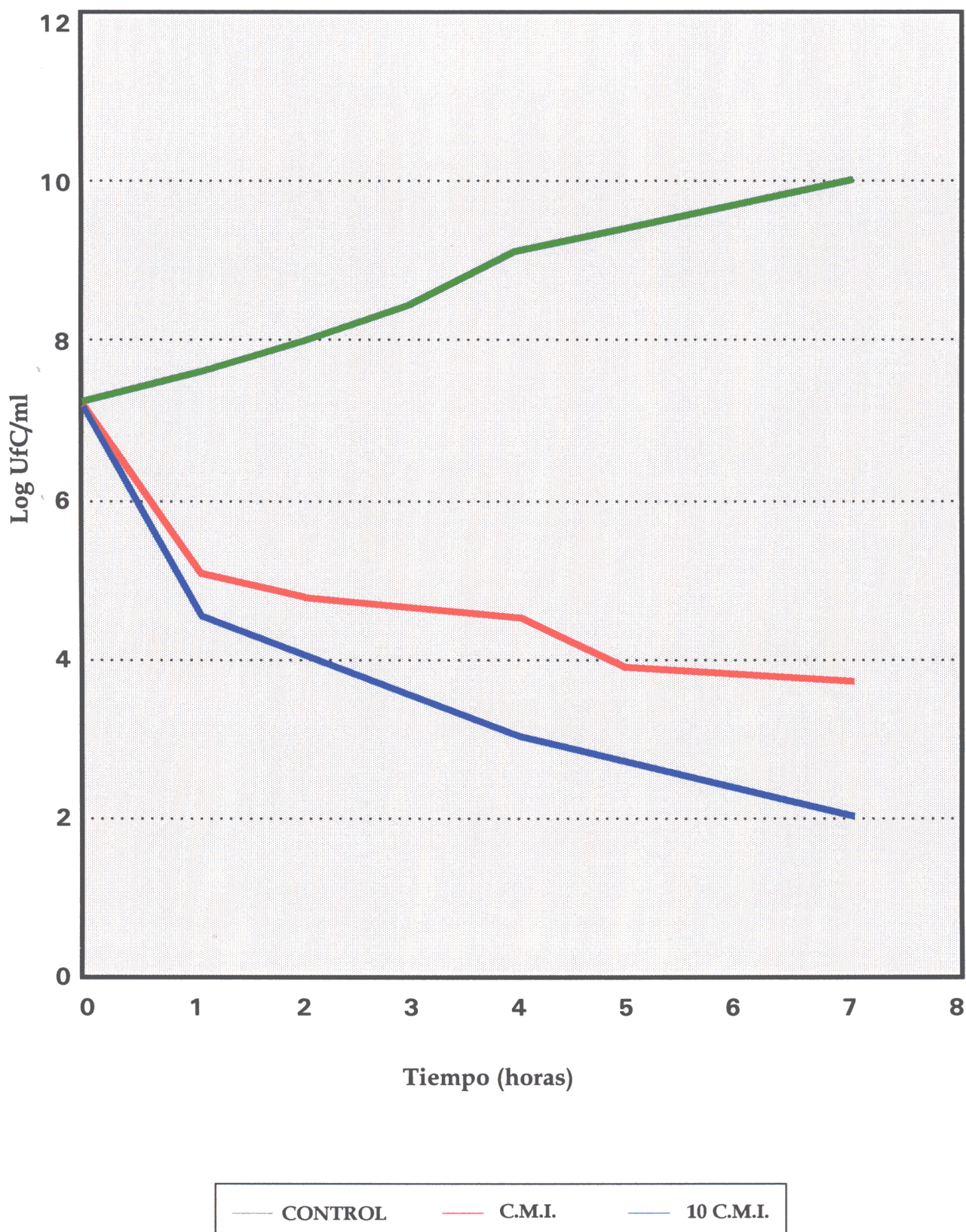


Gráfico n.º 9. Curva de crecimiento y letalidad de *E. coli* NCTC 11560 (productor de TEM 1) frente a ofloxacino.

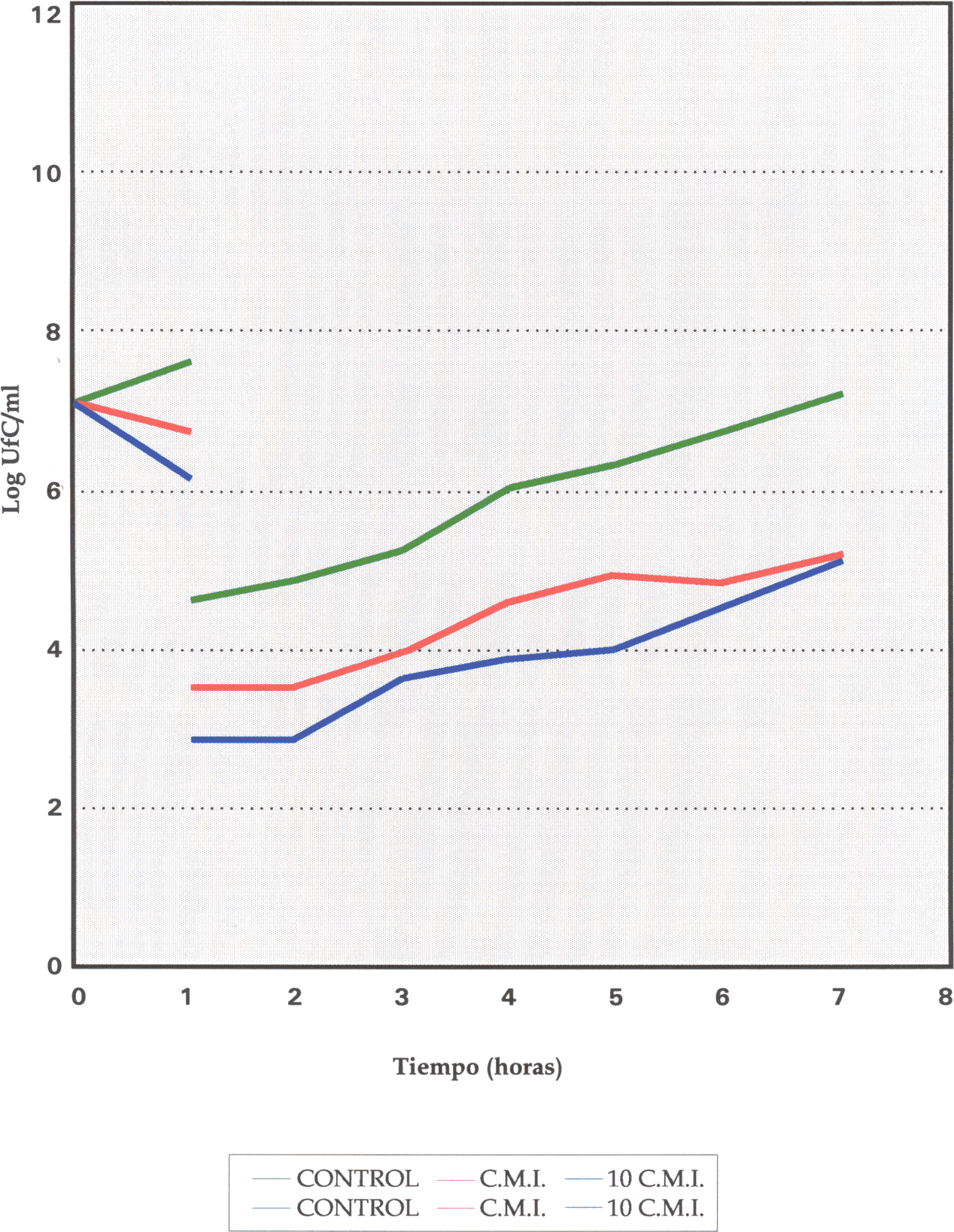


Gráfico n.º 10. Curva de EPA de ofloxacino frente a *E. coli* ATCC 25922.

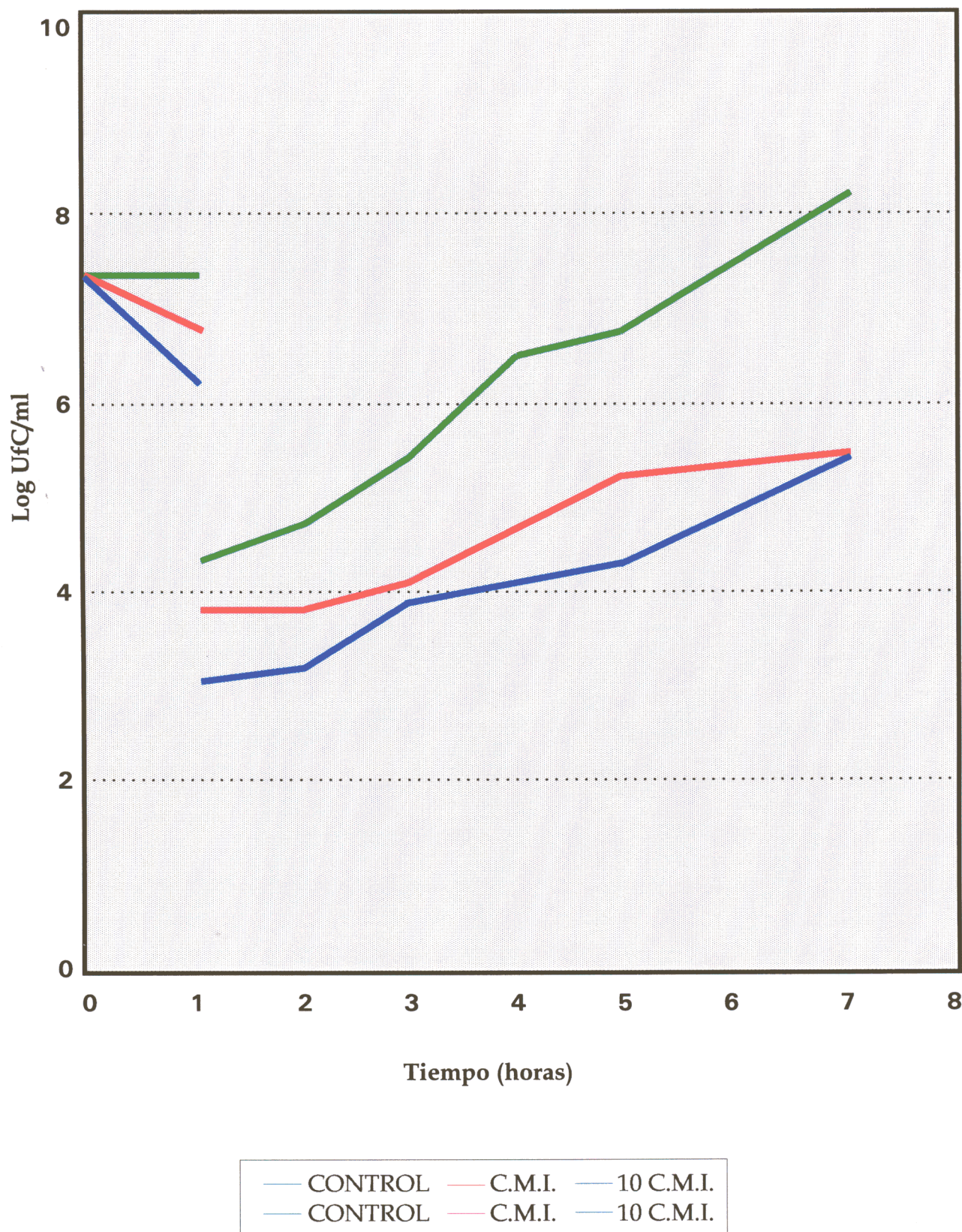


Gráfico n.º 11. Curva de EPA de ofloxacino frente a *E. coli* (hemolisina +).

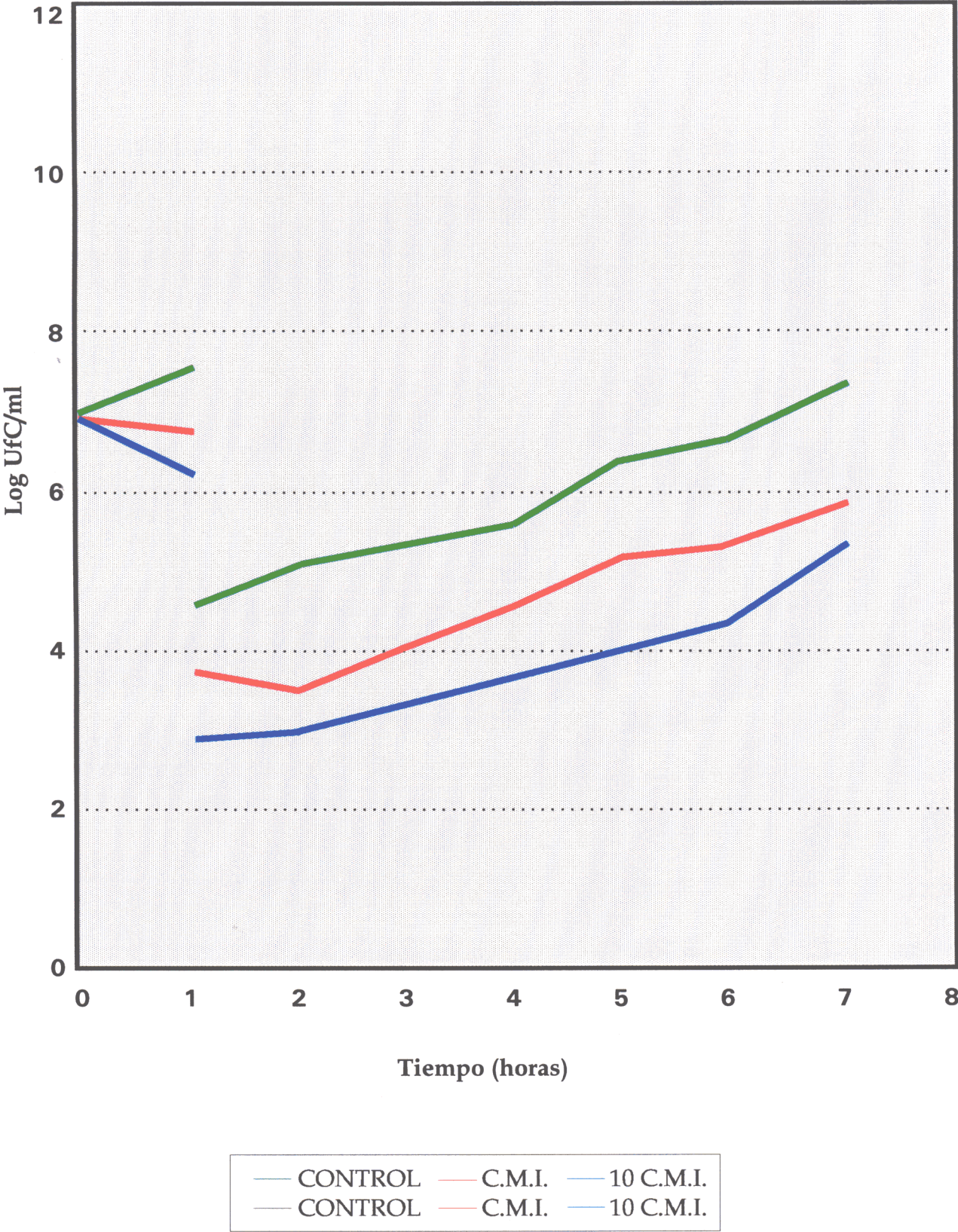


Gráfico n.º 12. Curva de EPA de ofloxacino frente a *E. coli* NCTC 11560 (productor de TEM 1).

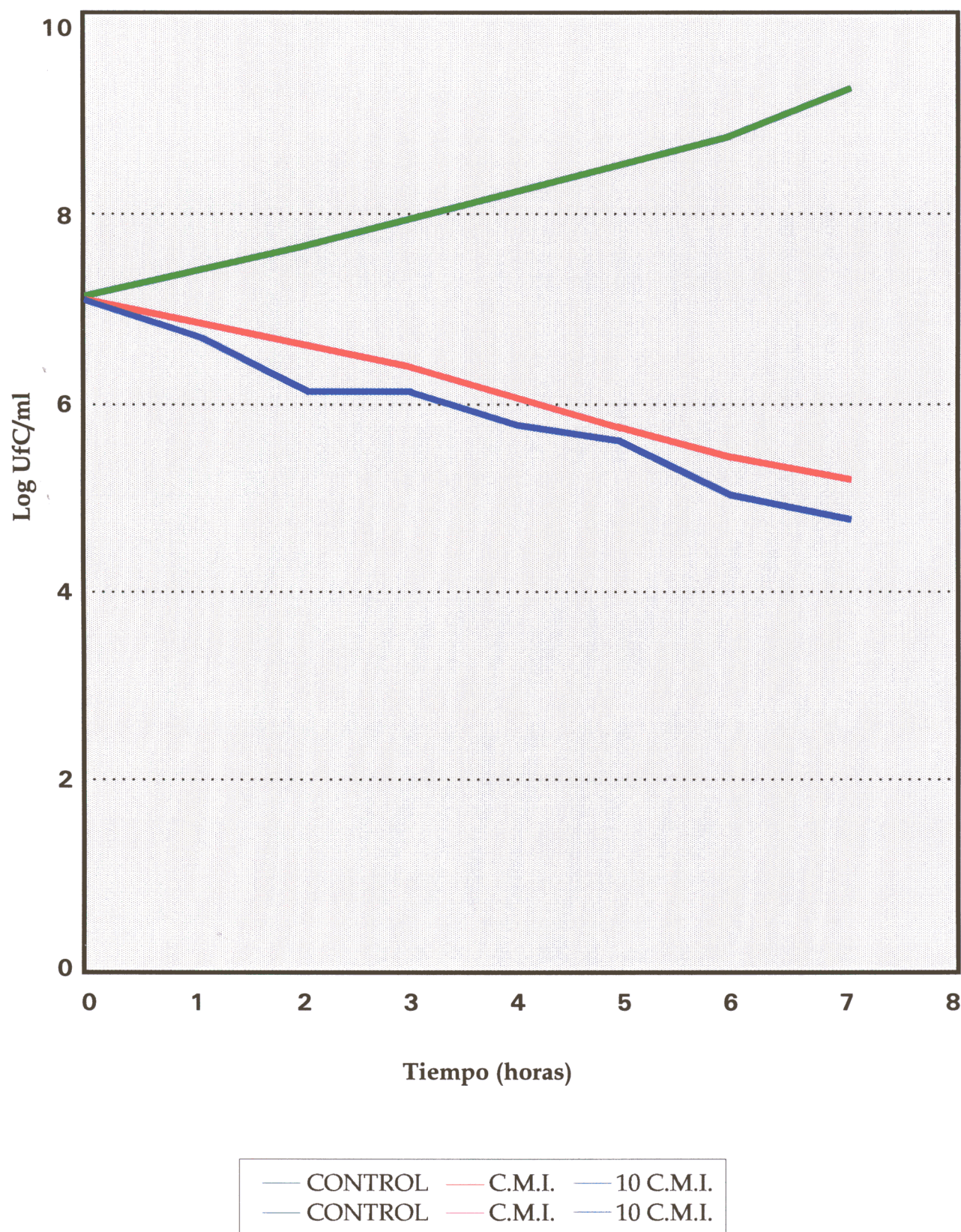


Gráfico n.º 13. Curva de crecimiento y letalidad de *E. coli* ATCC 25922 frente a pefloxacino.

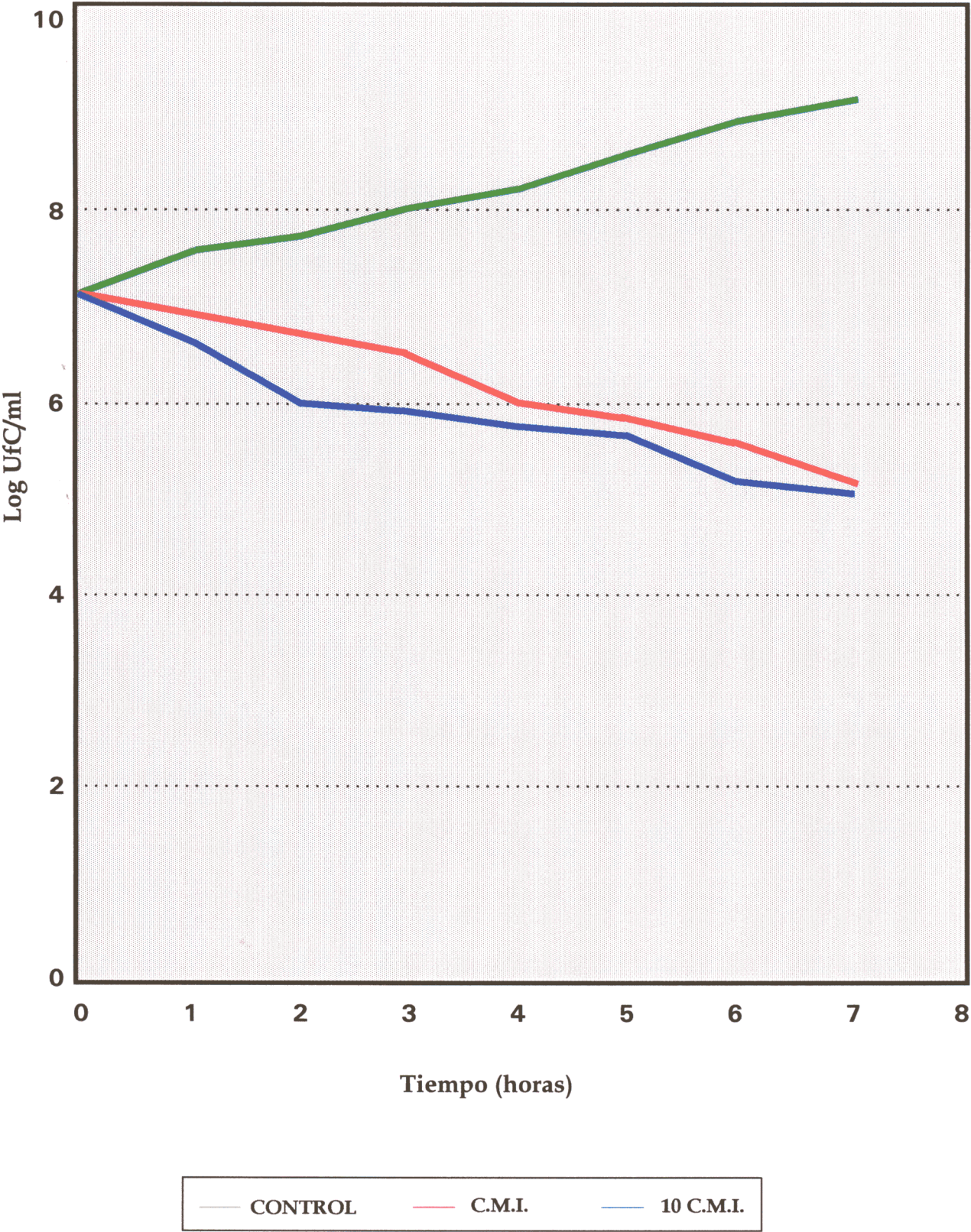


Gráfico n.º 14. Curva de crecimiento y letalidad de *E. coli* (hemolisina +) frente a pefloxacino.

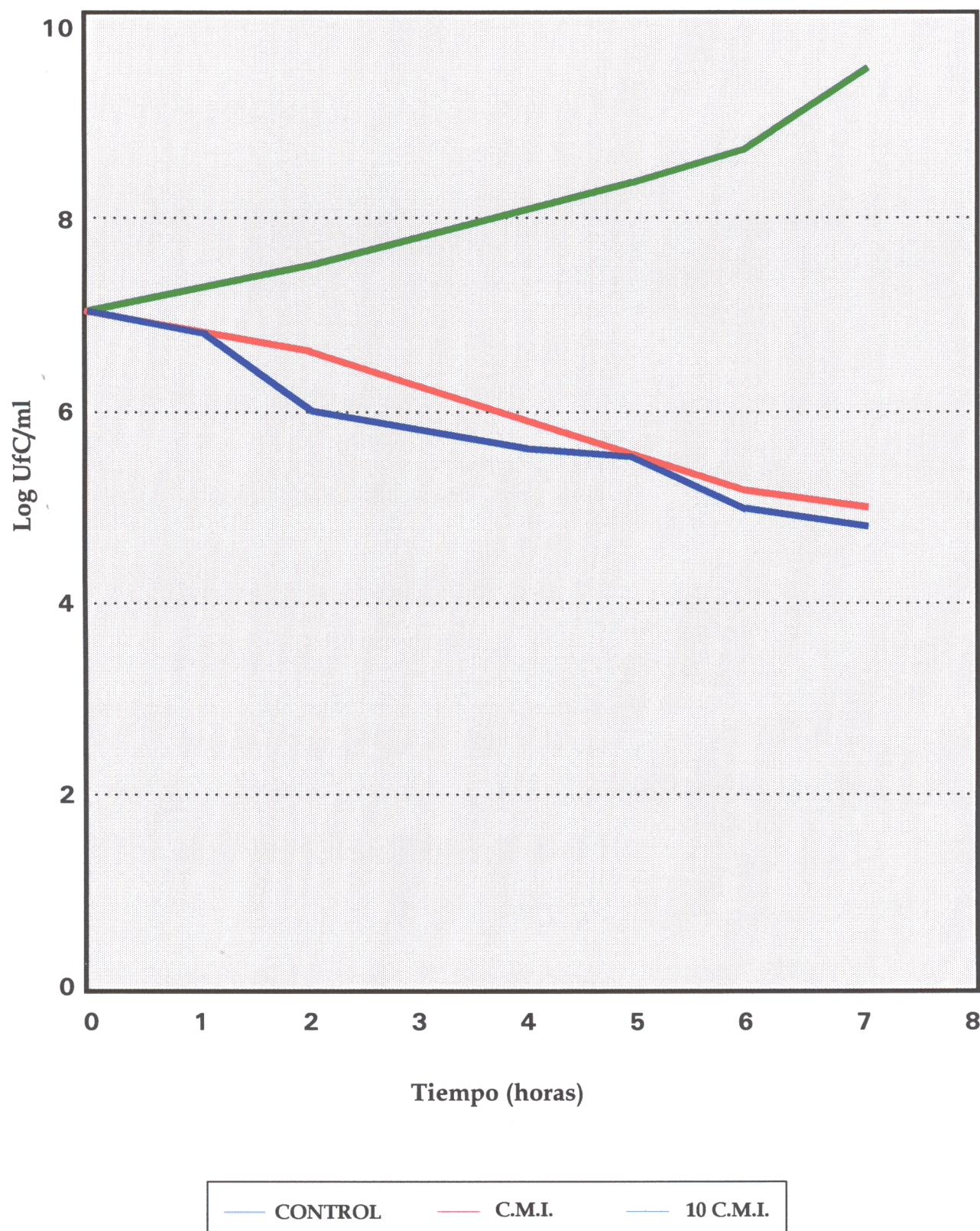


Gráfico n.º 15. Curva de crecimiento y letalidad de *E. coli* NCTC 11560 (productor de TEM 1) frente a pefloxacino.

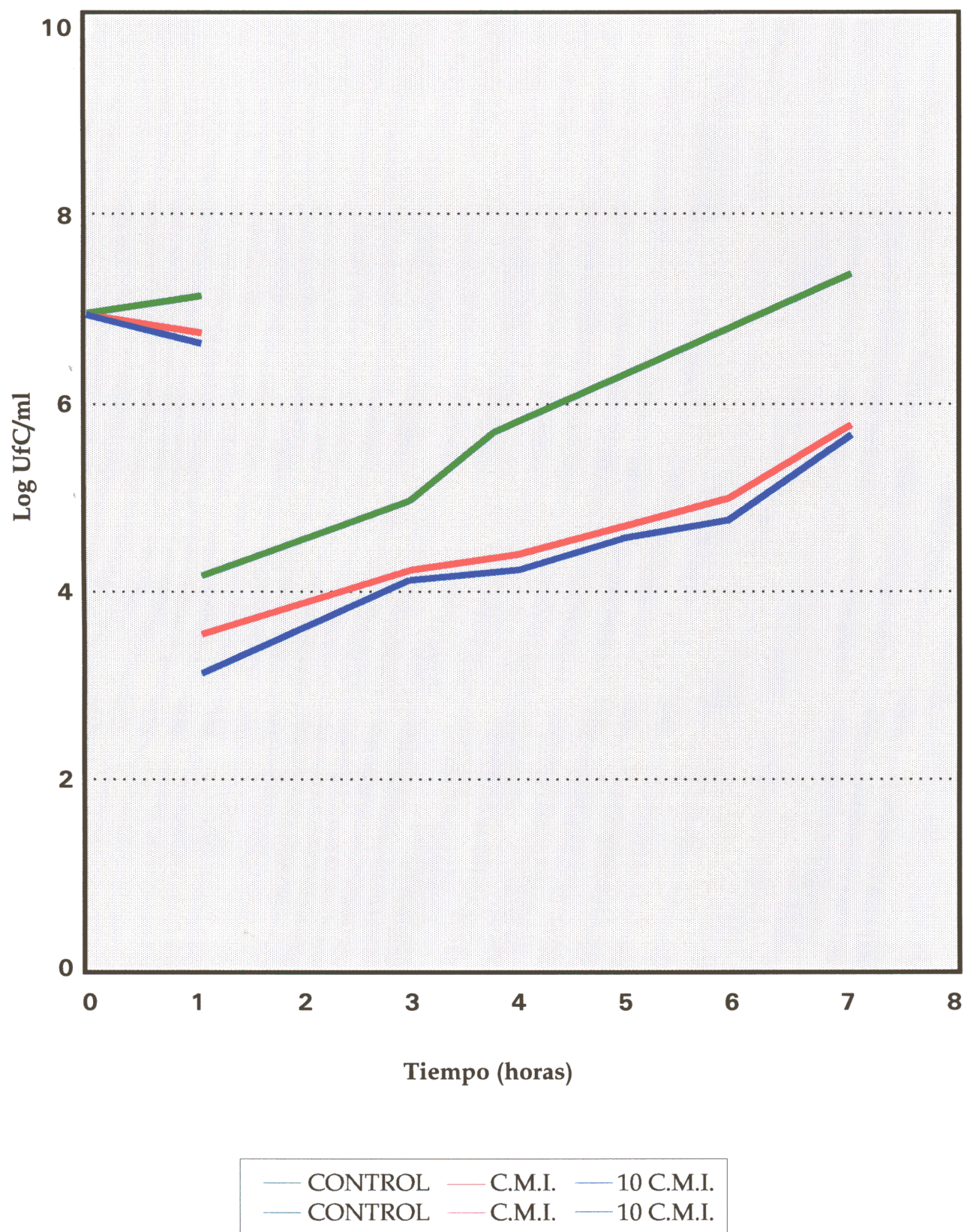


Gráfico n.º 16. Curva de EPA de pefloxacino frente a *E. coli* ATCC 25922.

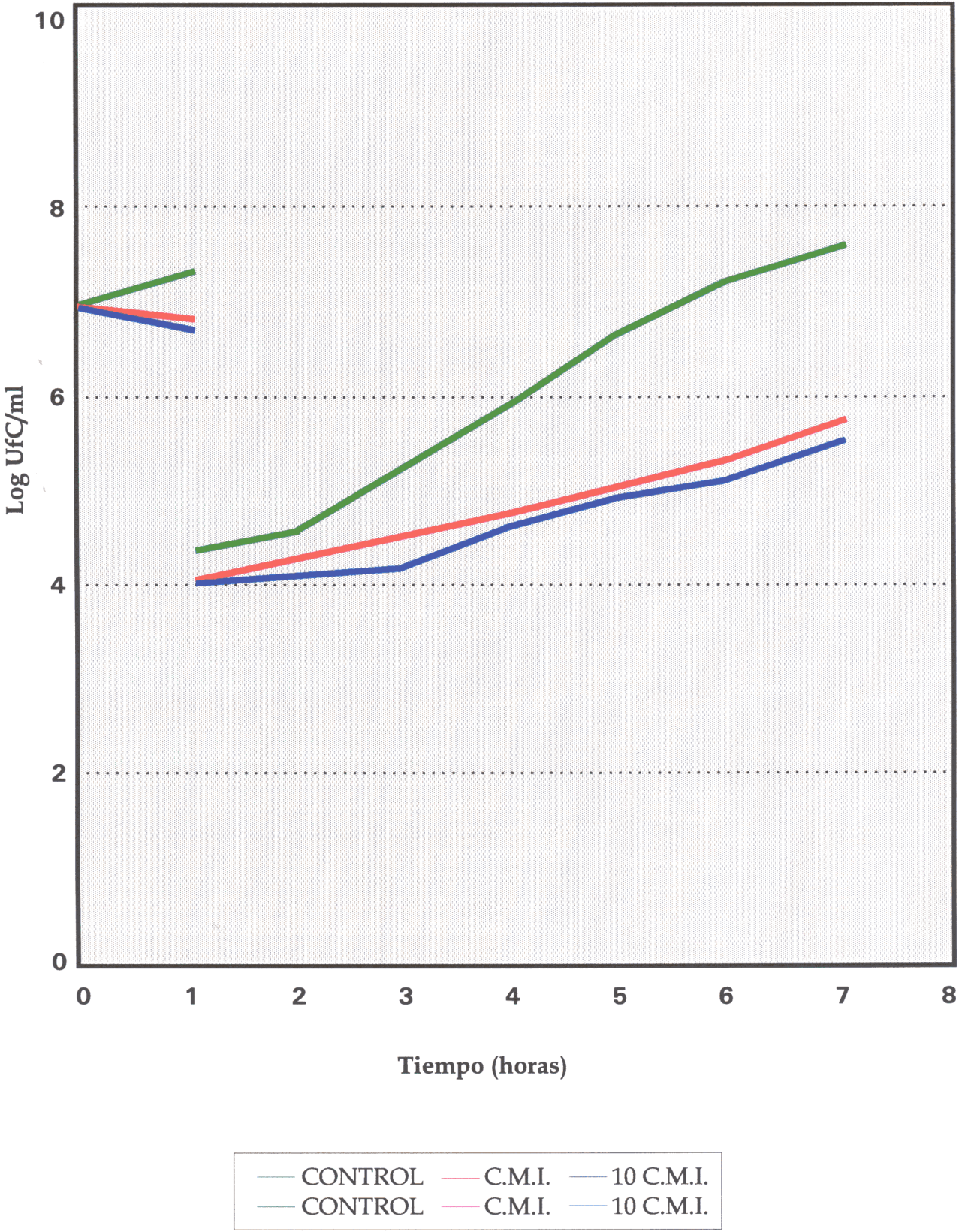


Gráfico n.º 17. Curva de EPA de pefloxacino frente a *E. coli* (hemolisina +).

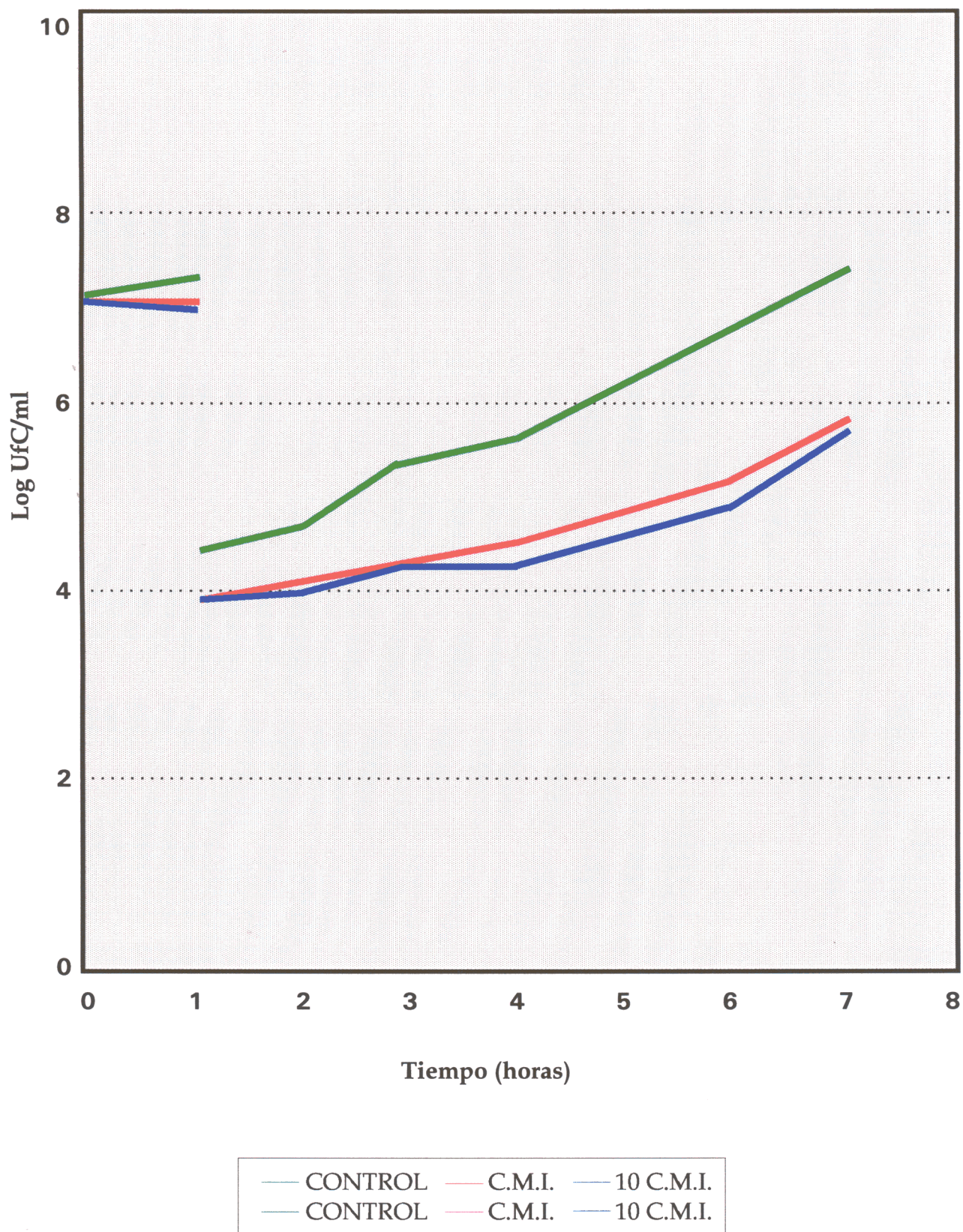


Gráfico n.º 18. Curva de EPA de pefloxacino frente a *E. coli* NCTC 11560 (productor de TEM 1).

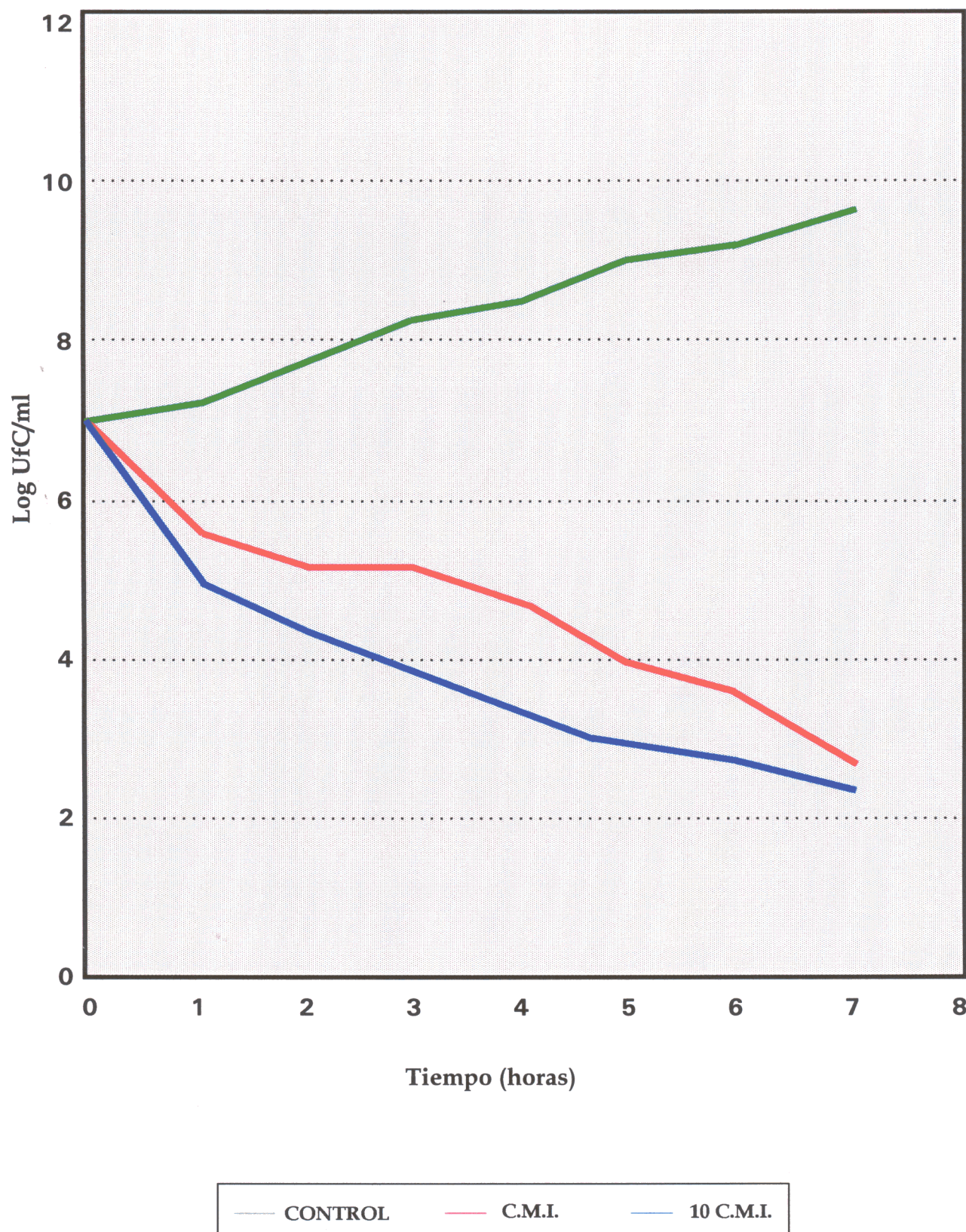


Gráfico n.º 19. Curva de letalidad de *E. coli* ATCC 25922 frente a fleroxacino a CMI y 10 CMI.

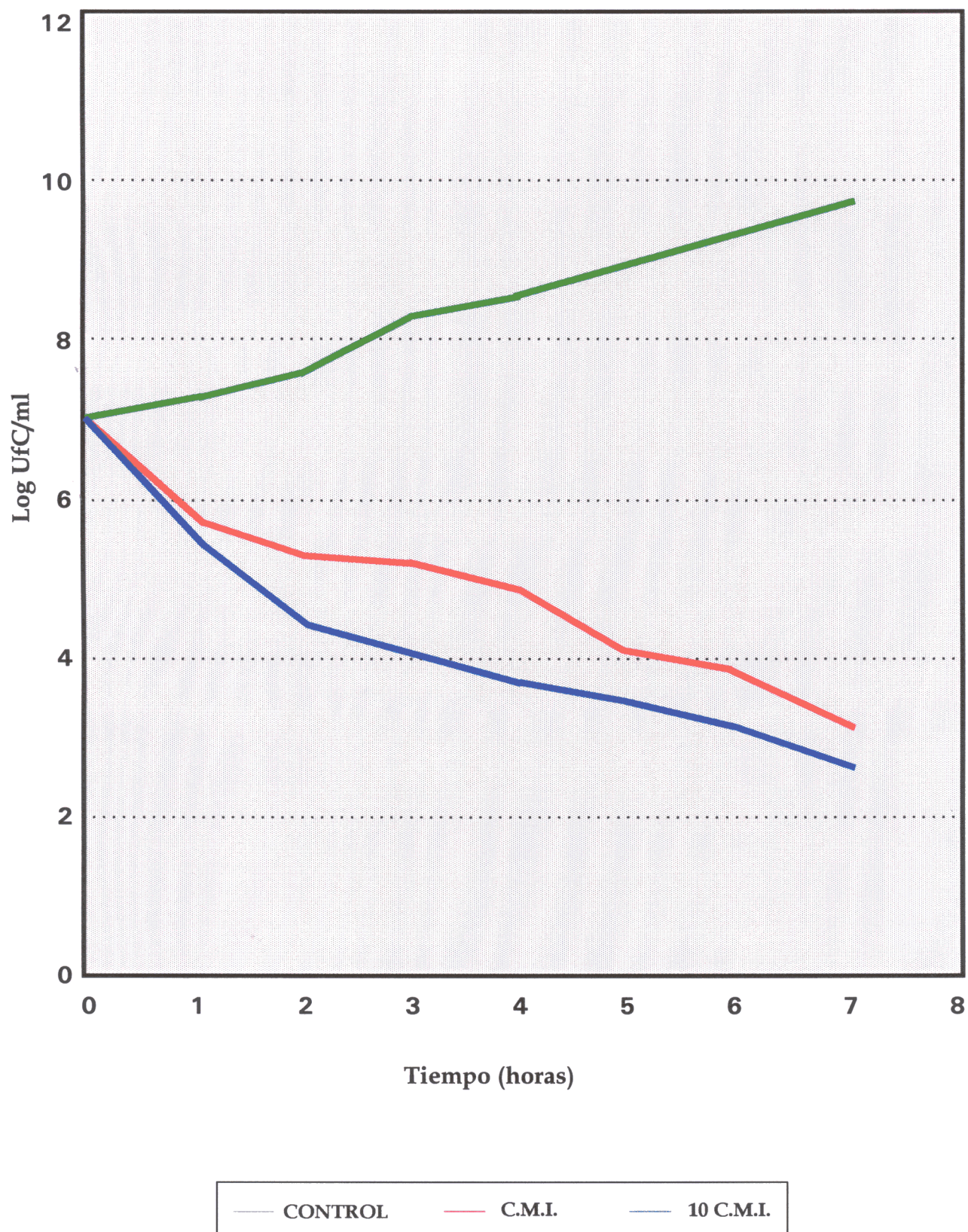


Gráfico n.º 20. Curva de crecimiento y letalidad de *E. coli* (hemolisina +) frente a fleroxacino.

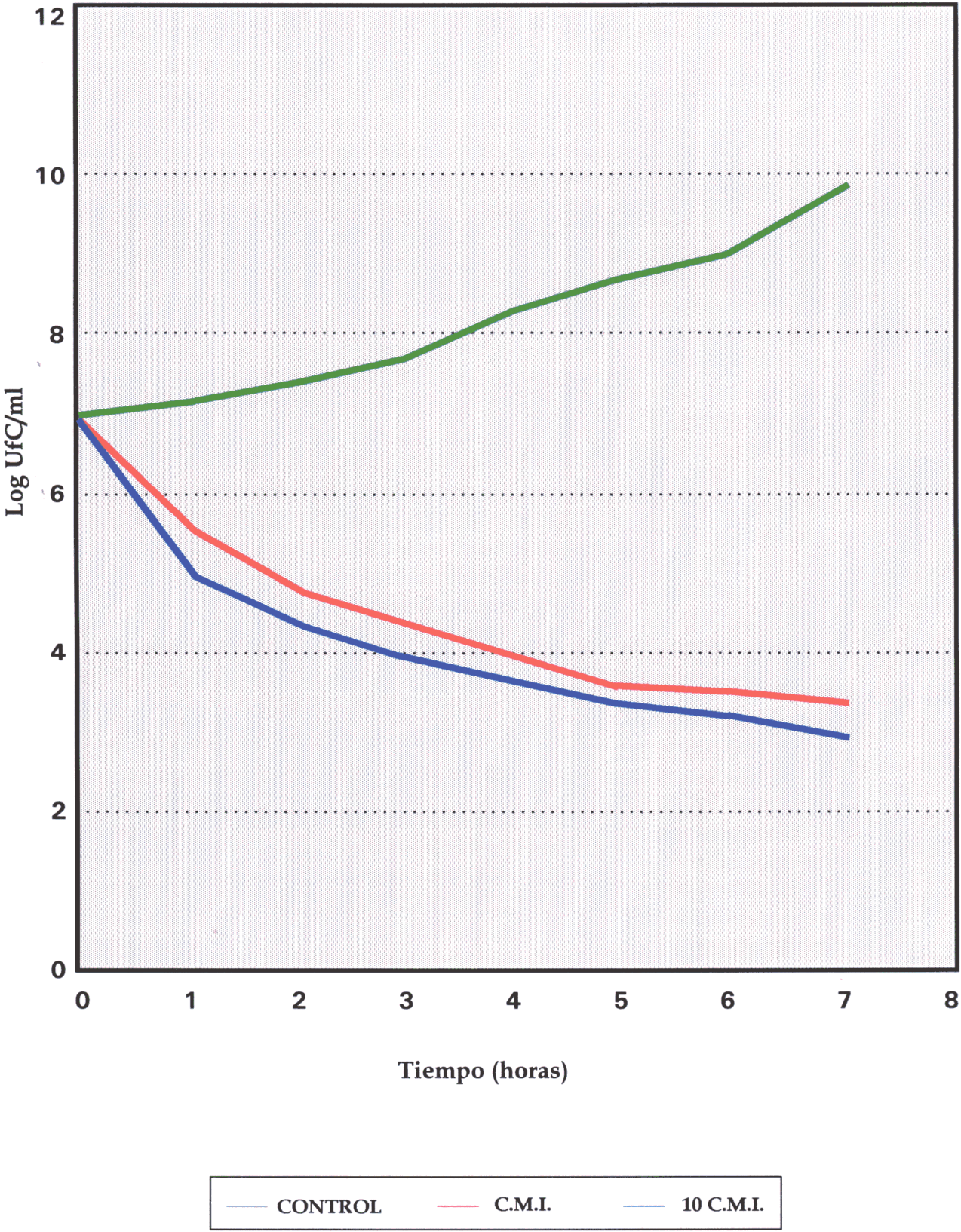


Gráfico n.º 21. Curva de crecimiento y letalidad de *E. coli* NCTC 11560 (productor de TEM 1) frente a fleroxacino.

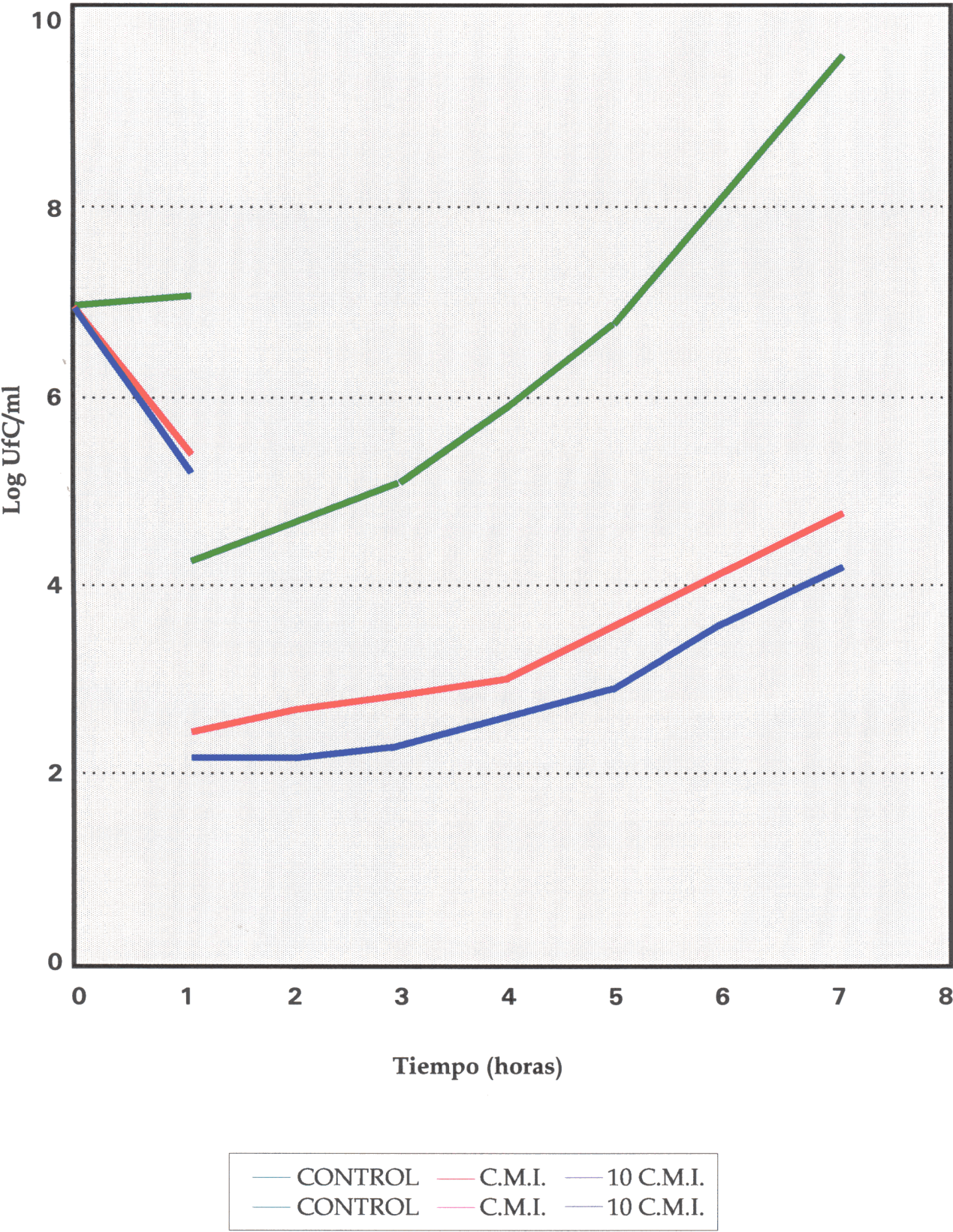


Gráfico n.º 22. Curva de EPA de fleroxacino frente a *E. coli* ATCC 25922.

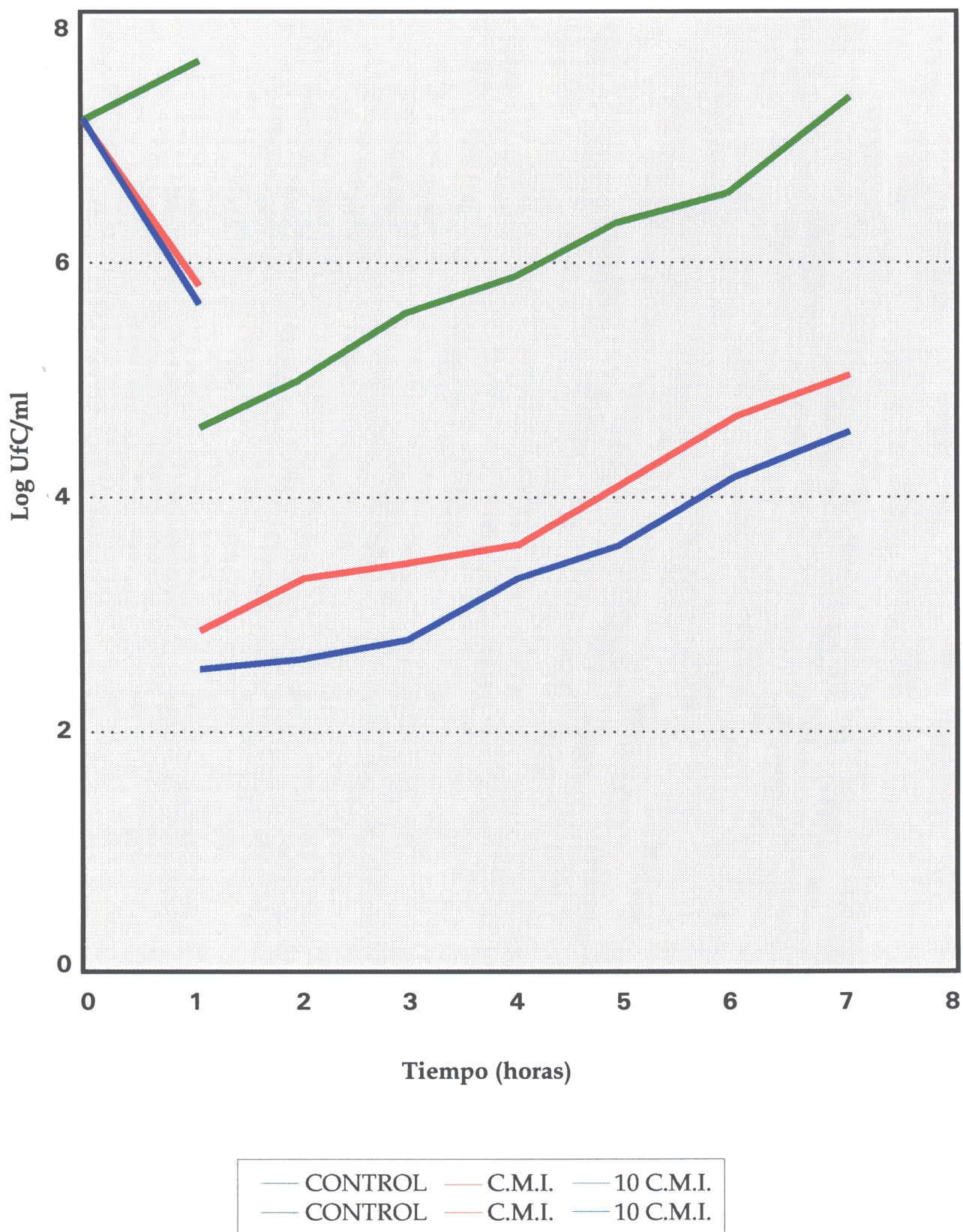


Gráfico n.º 23. Curva de EPA de fleroxacin frente a *E. coli* (hemolisina +).

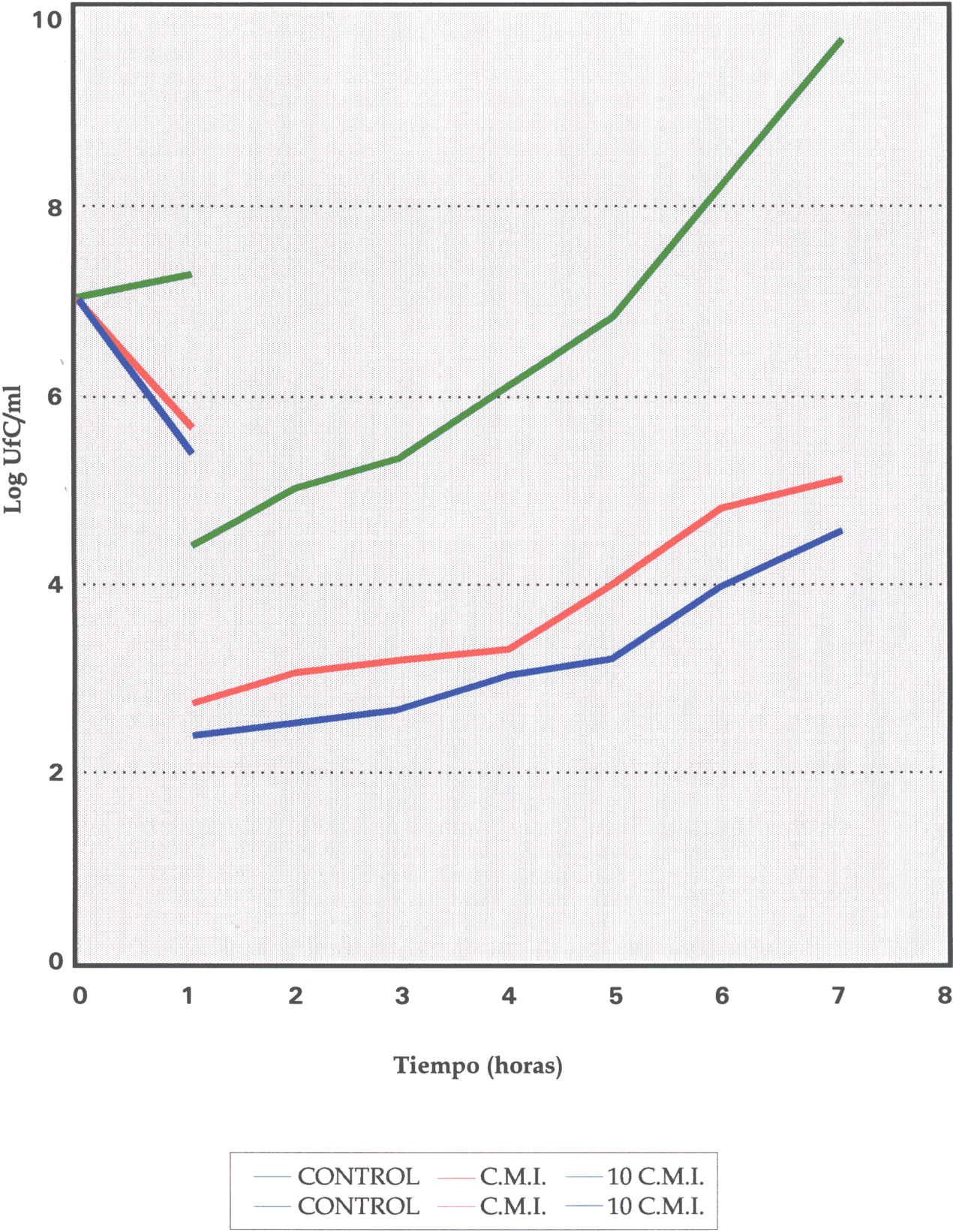


Gráfico n.º 24. Curva de EPA de fleroxacino frente a *E. coli* NCTC 11560 (productor de TEM 1).

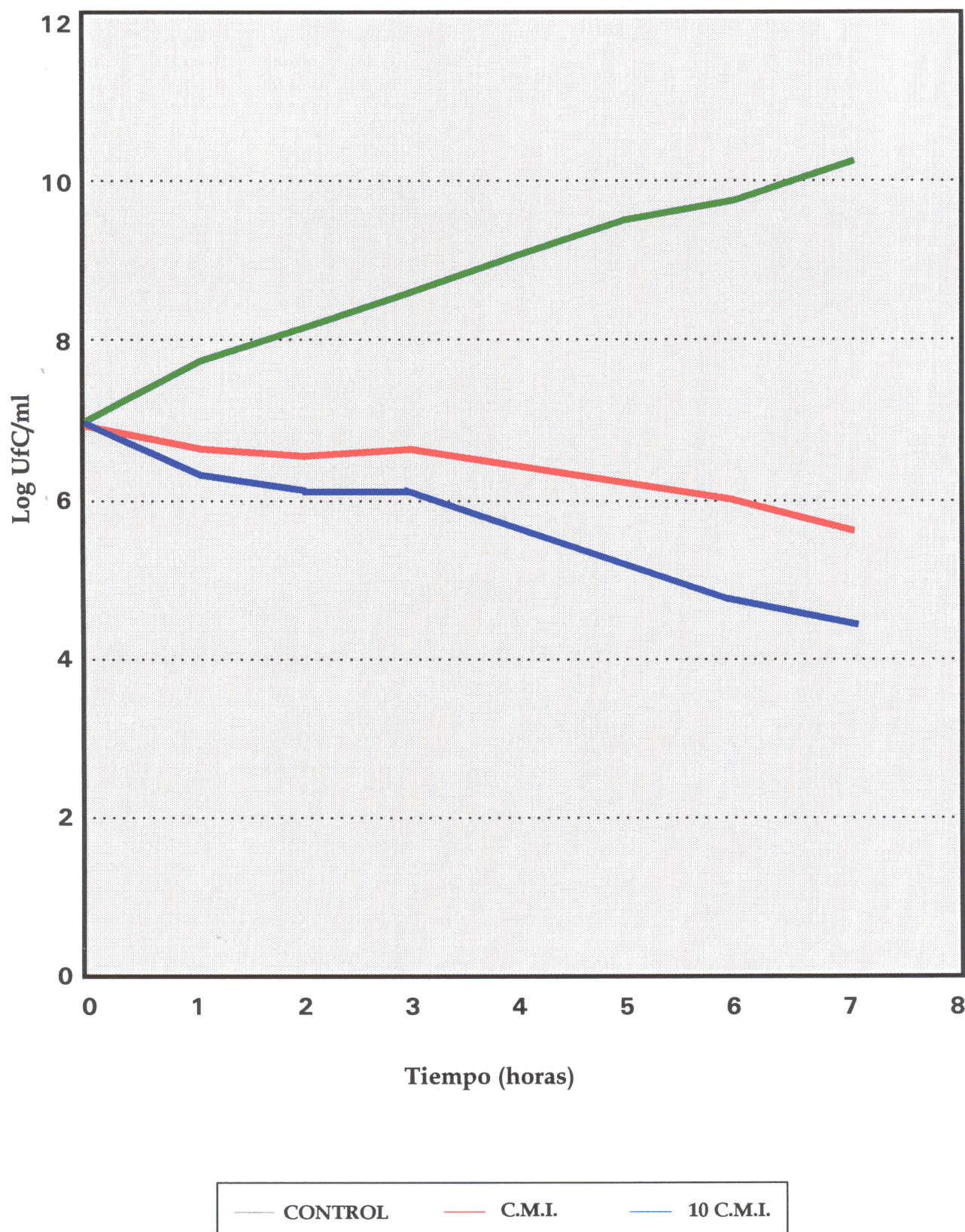


Gráfico n.º 25. Curva de crecimiento y letalidad de *E. coli* ATCC 25922 frente a norfloxacin.

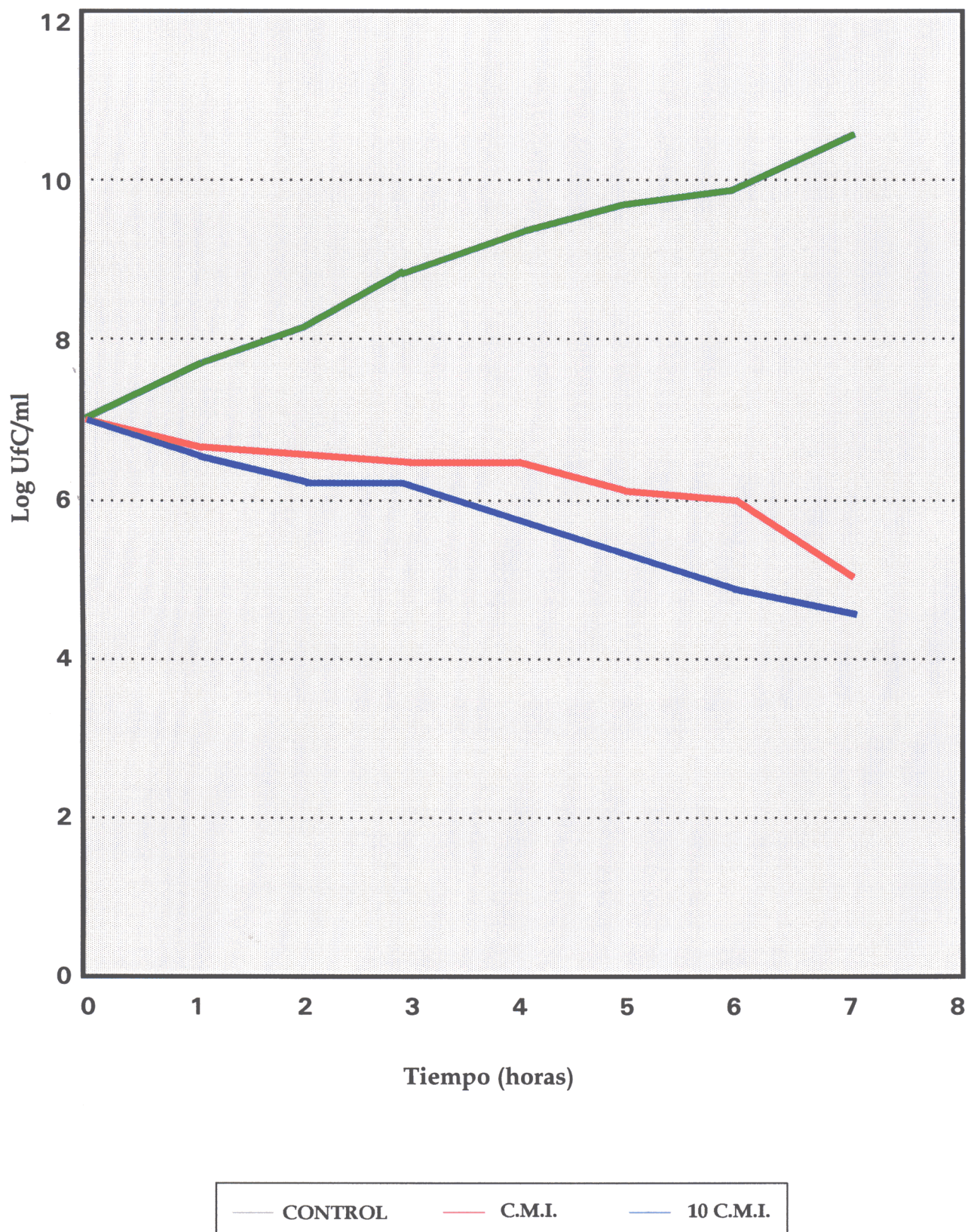


Gráfico n.º 26. Curva de crecimiento y letalidad de *E. coli* (hemolisina +) frente a norfloxacino.

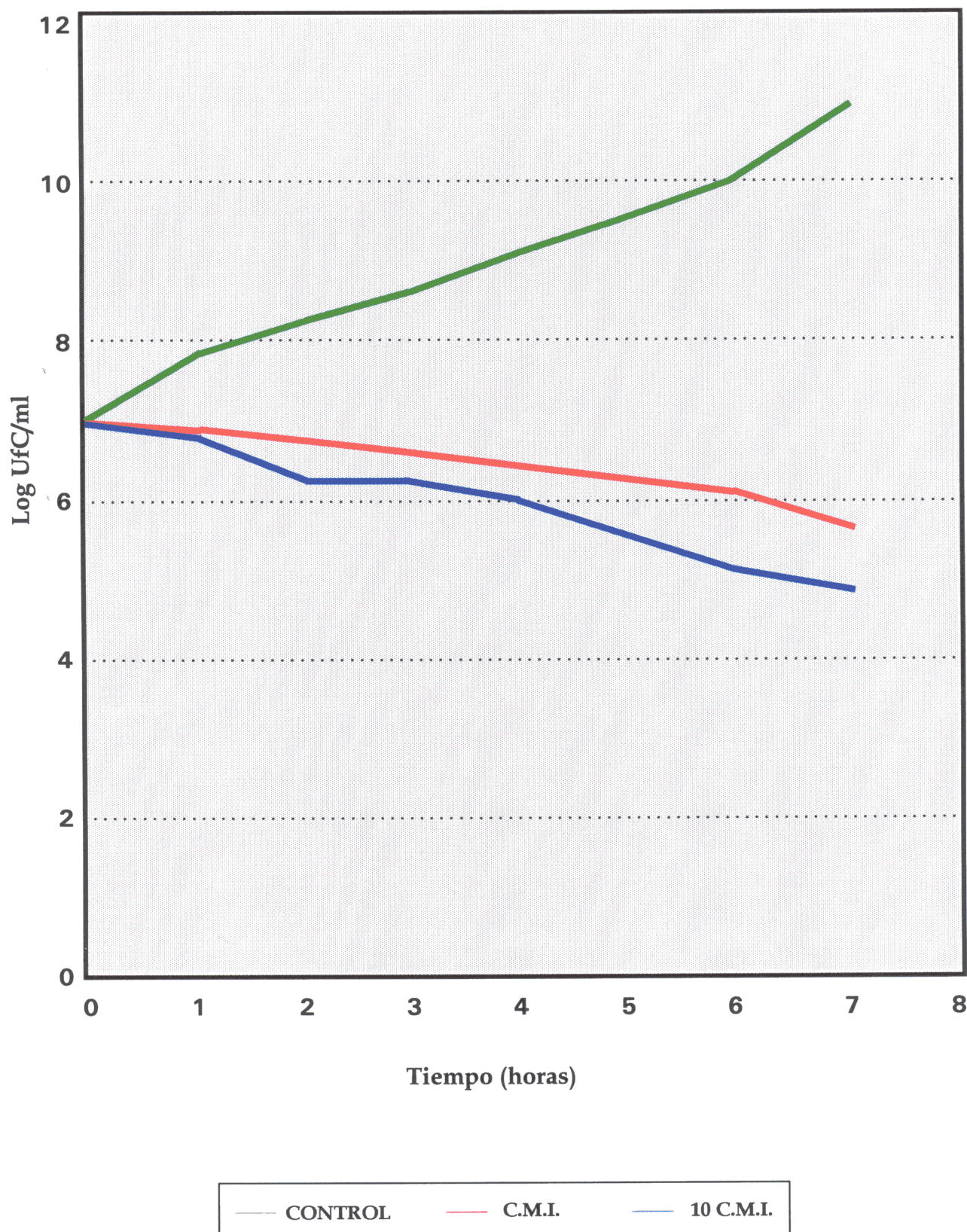


Gráfico n.º 27. Curva de crecimiento y letalidad de *E. coli* NCTC 11560 (productor de TEM 1) frente a norfloxacin.

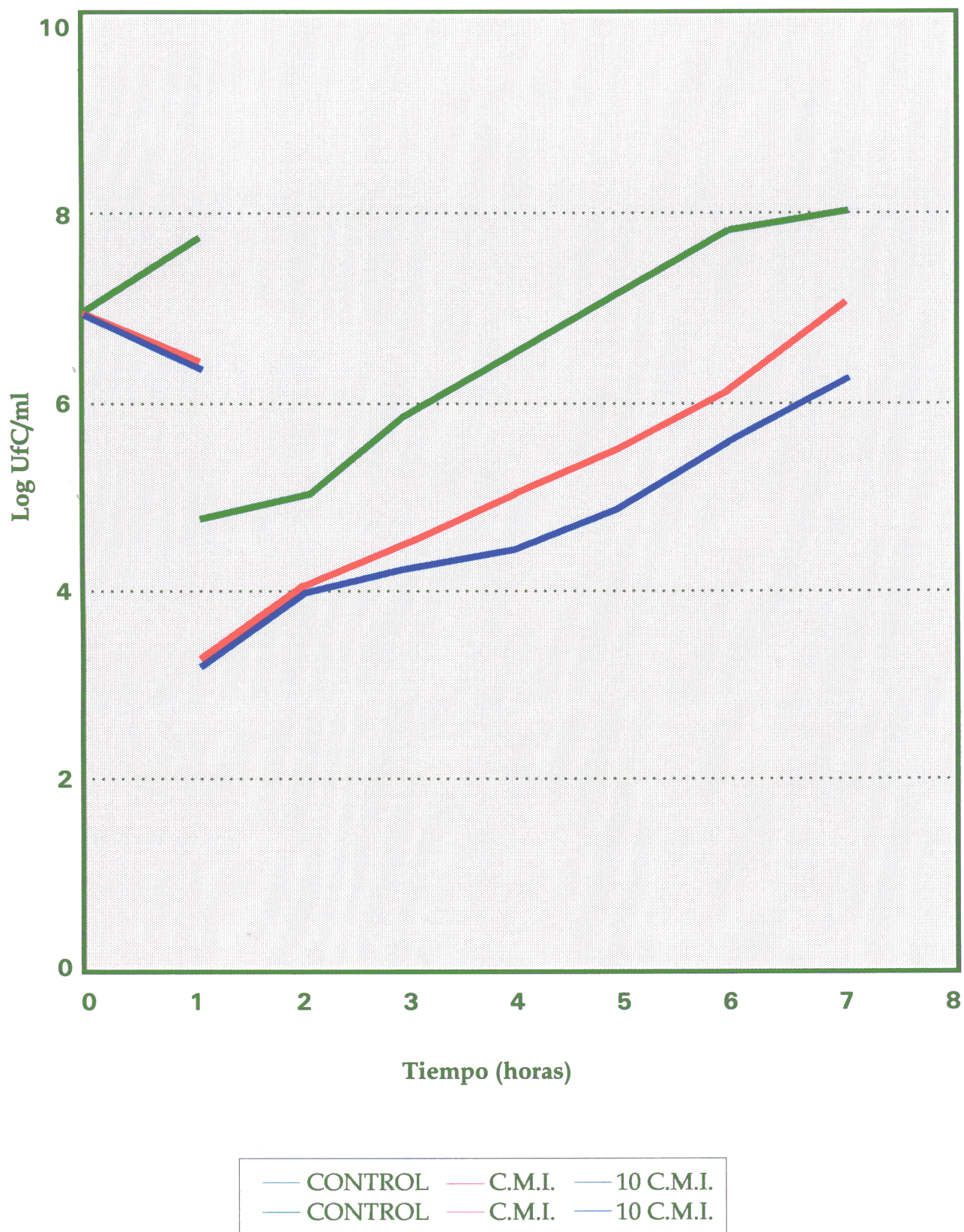


Gráfico n.º 28. Curva de EPA de norfloxacin frente a *E. coli* ATCC 25922.

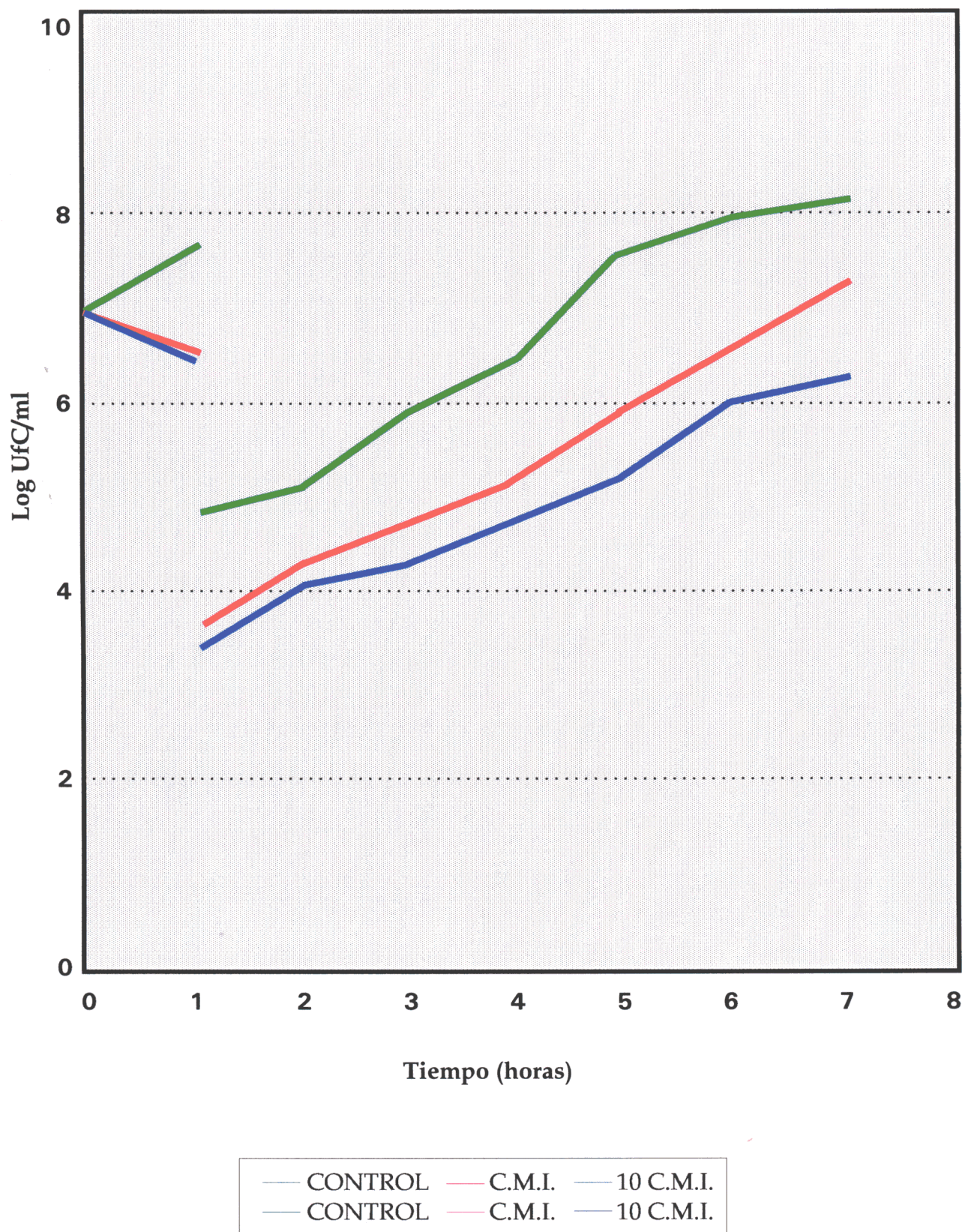


Gráfico n.º 29. Curva de EPA de norfloxacino frente a *E. coli* (hemolisina +).

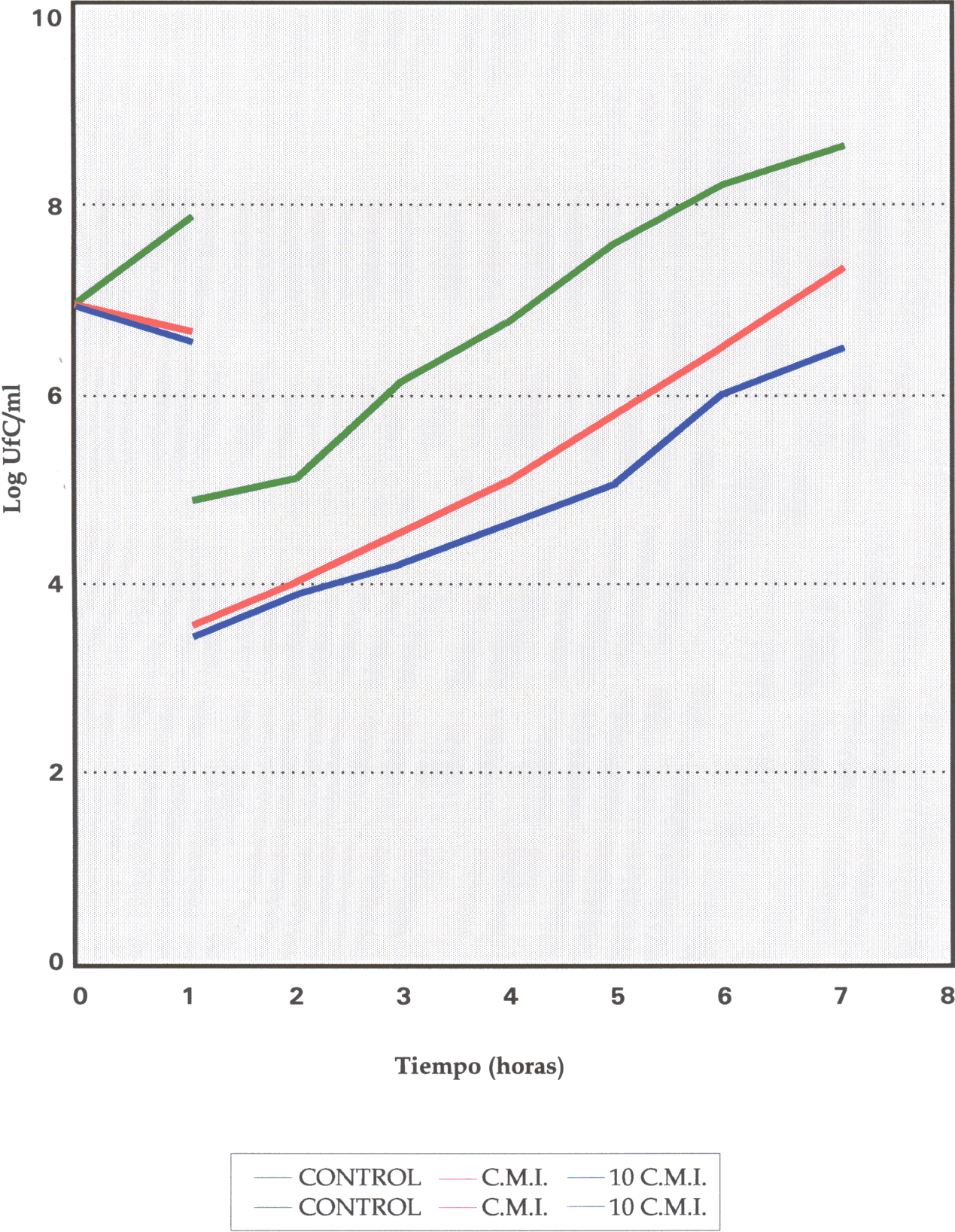


Gráfico n.º 30. Curva de EPA de norfloxacin frente a *E. coli* NCTC 11560 (productor de TEM 1).

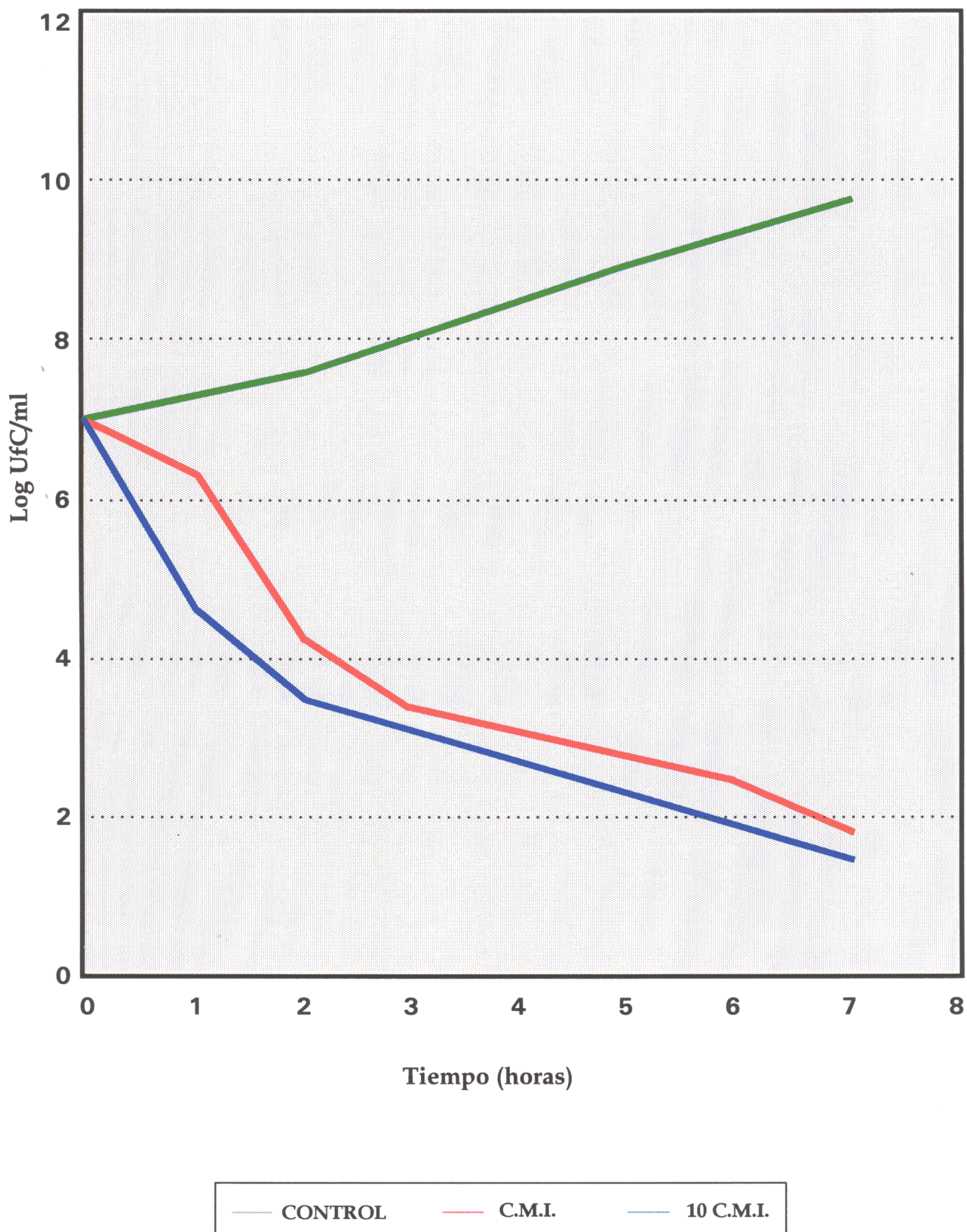


Gráfico n.º 31. Curva de crecimiento y letalidad de *E. coli* ATCC 25922 frente a amoxicilina-ácido clavulánico.

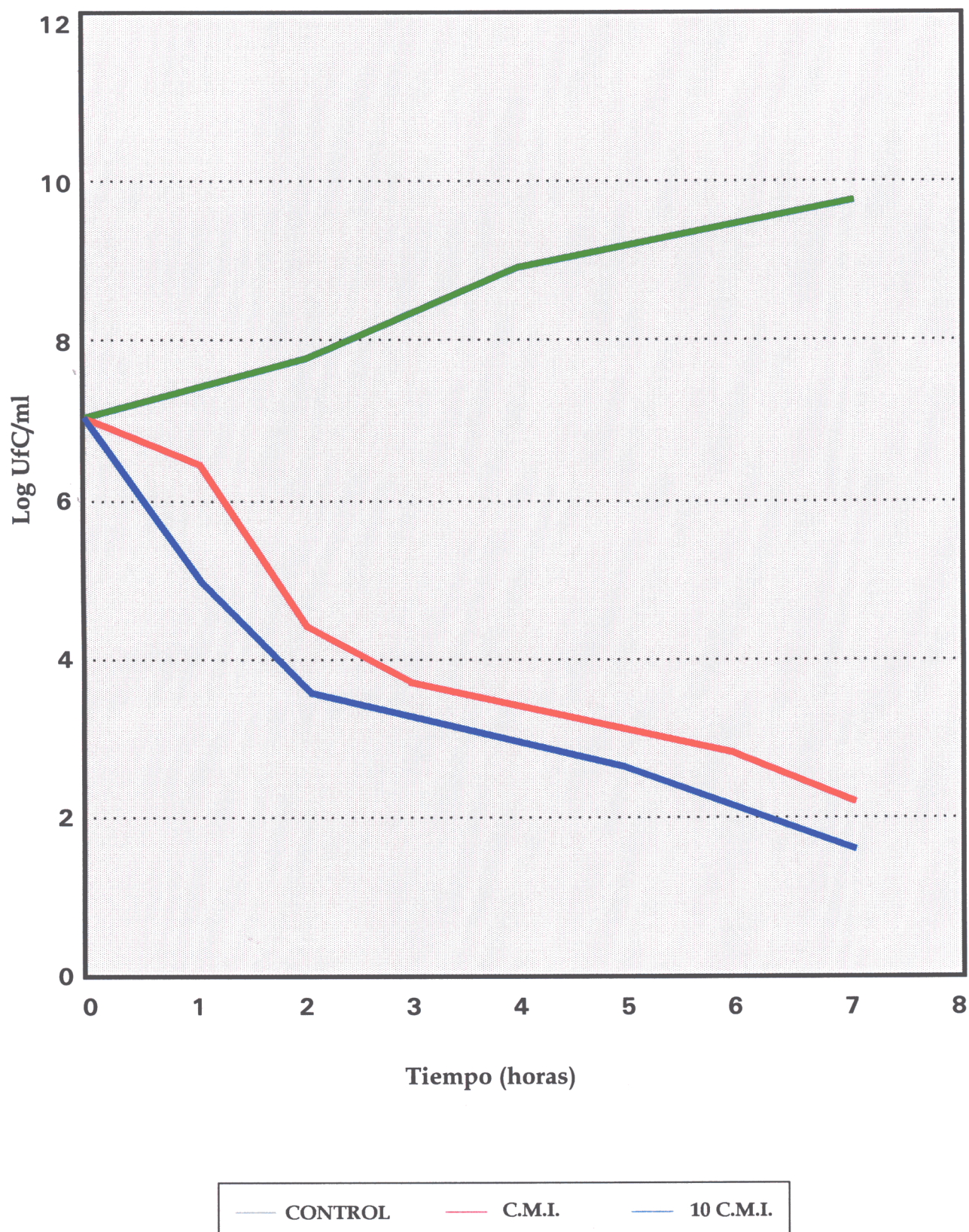


Gráfico n.º 32. Curva de crecimiento y letalidad de *E. coli* (hemolisina +) frente a amoxicilina-ácido clavulánico.

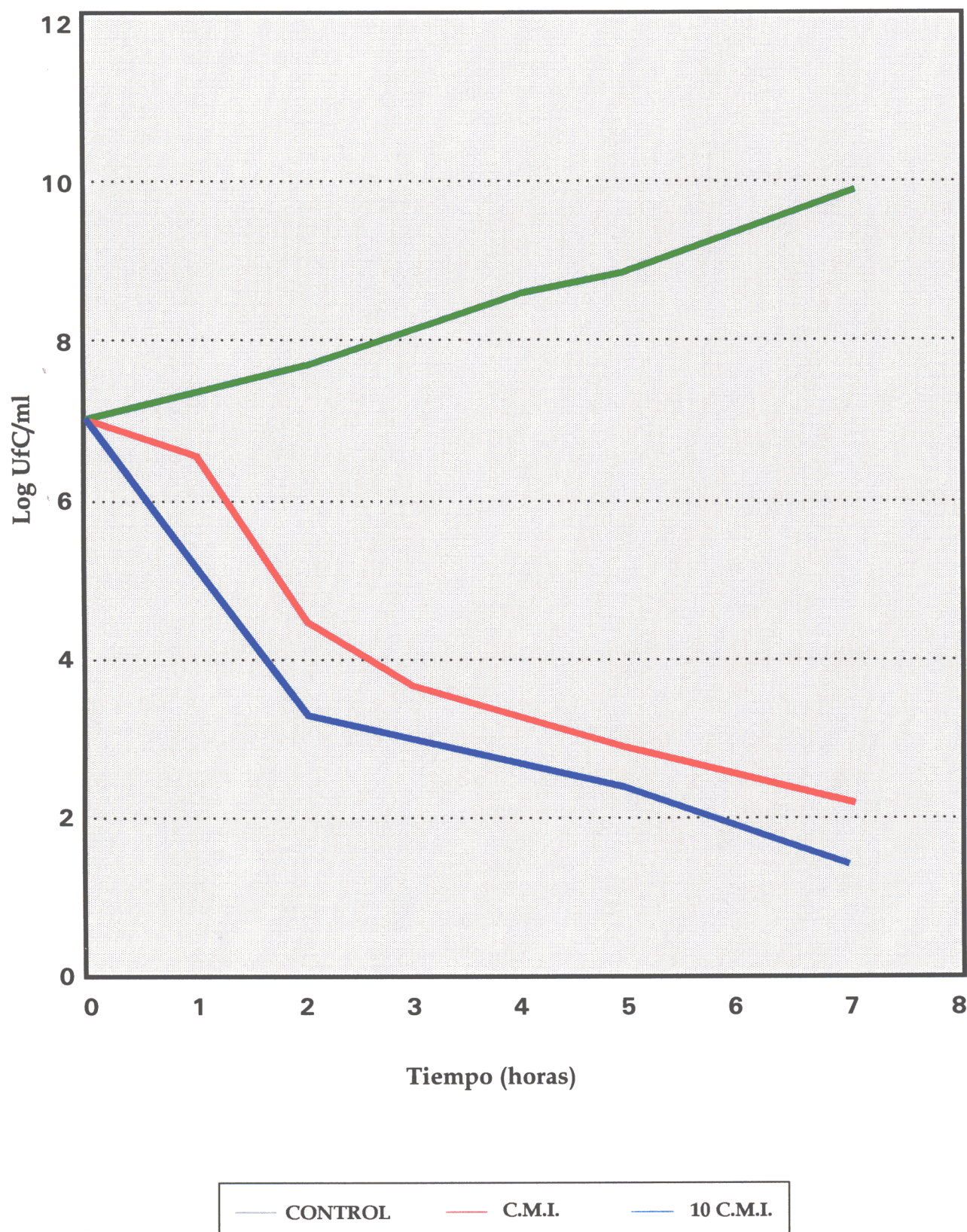


Grafico n.º 33. Curva de crecimiento y letalidad de *E. coli* NCTC 11560 (productor de TEM 1) frente a amoxicilina-ácido clavulánico.

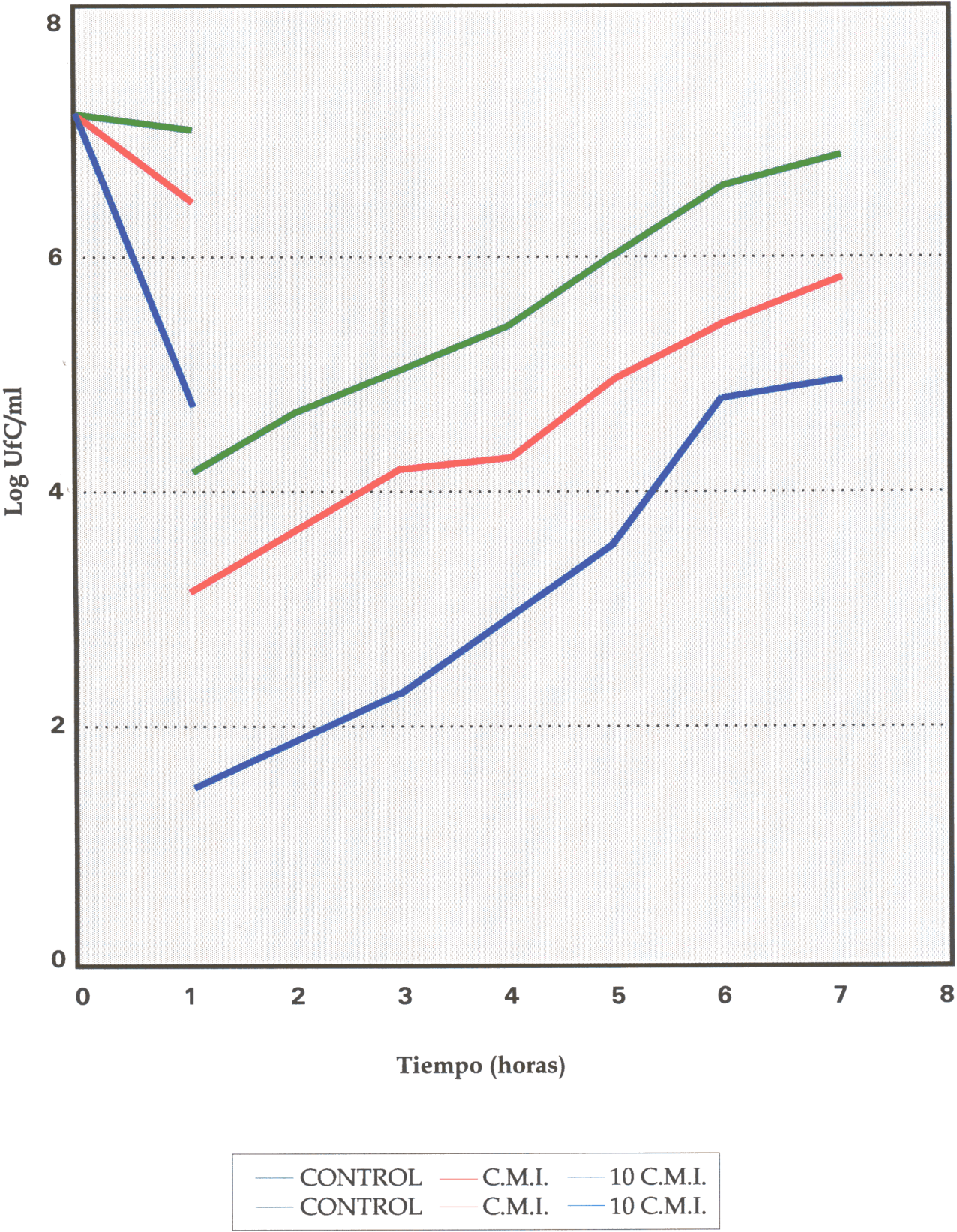


Gráfico n.º 34. Curva de EPA de amoxicilina-ácido clavulánico a CMI y 10 CMI frente a *E. coli* ATCC 25922.

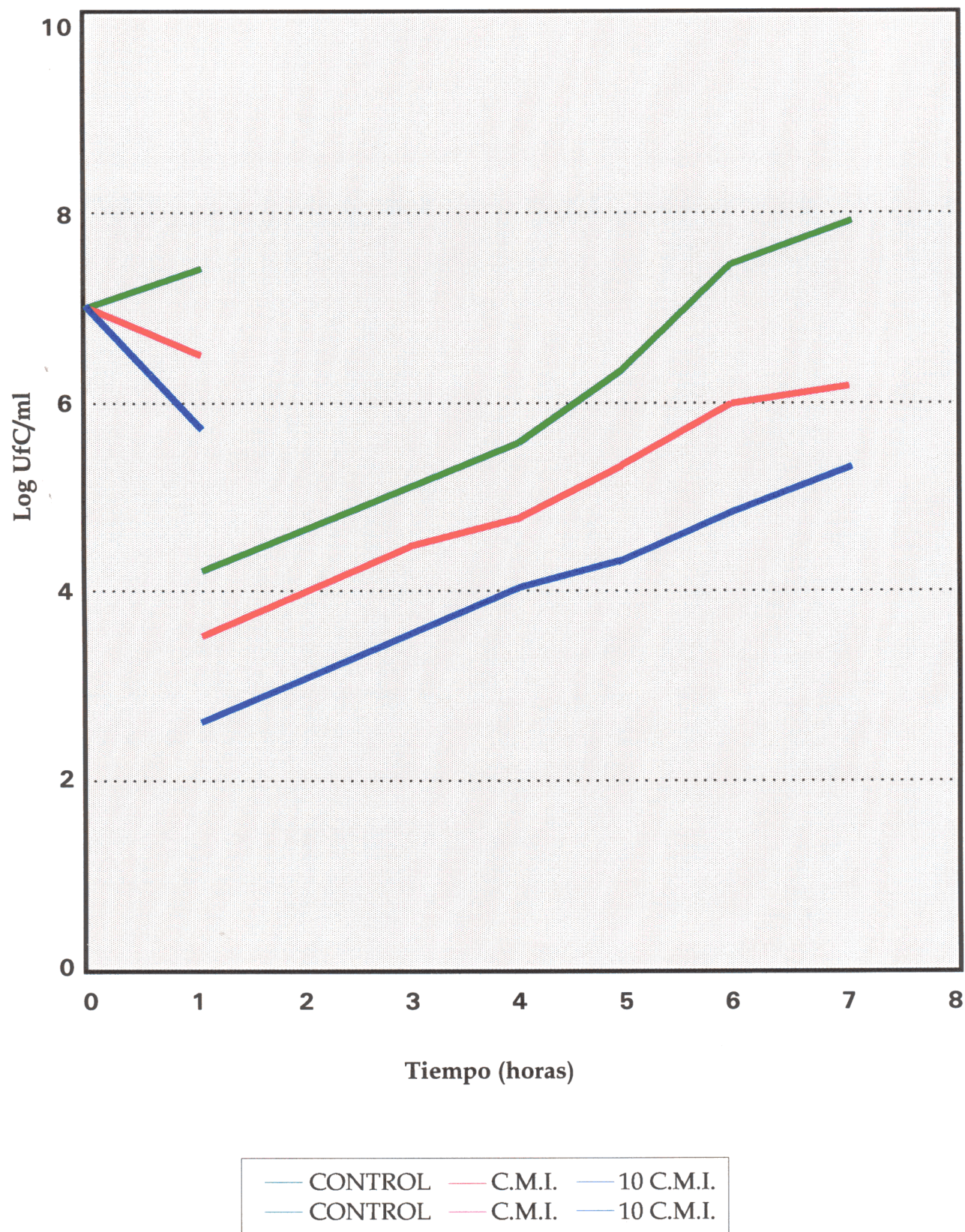


Gráfico n.º 35. Curva de EPA de amoxicilina-ácido clavulánico frente a *E. coli*

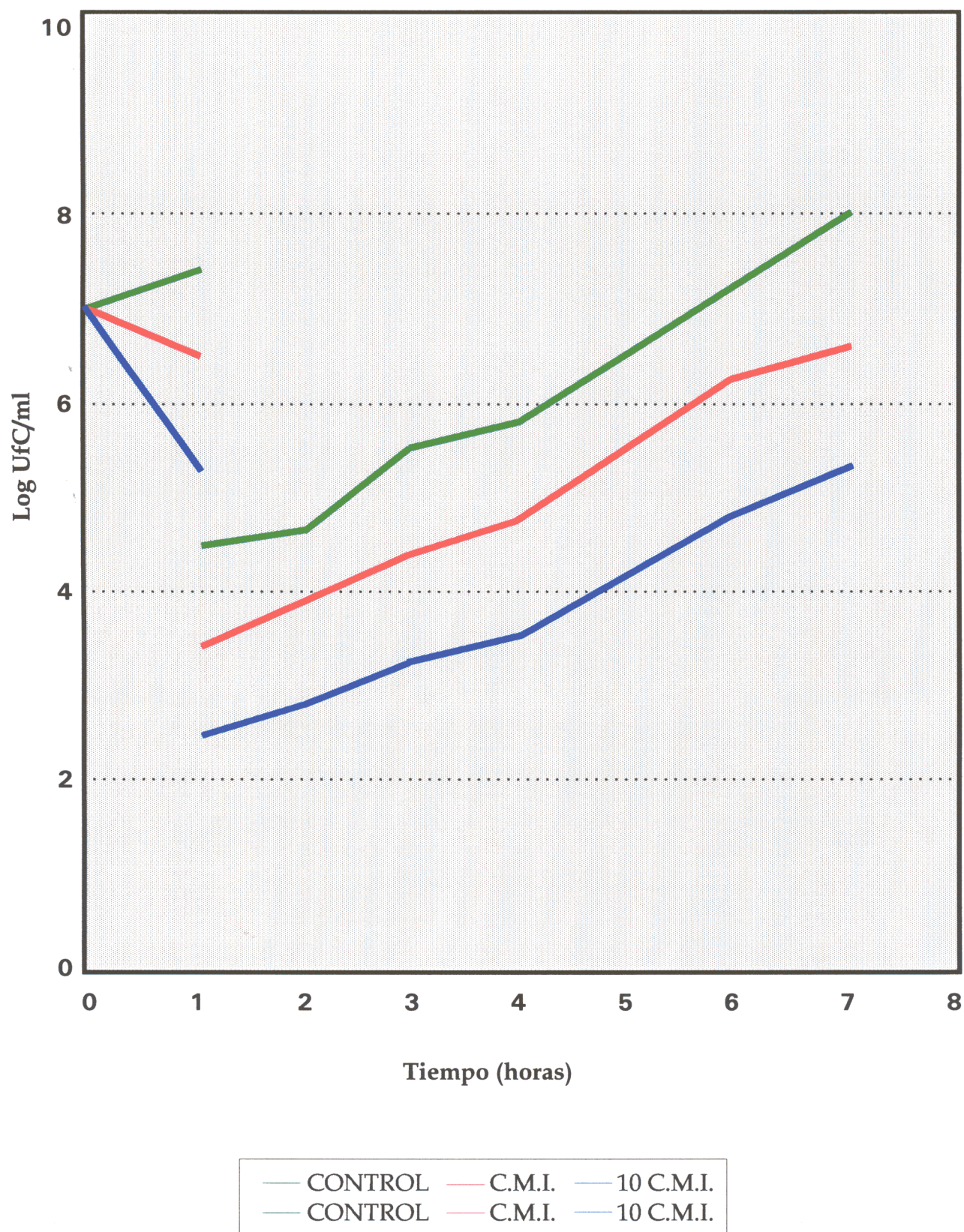


Gráfico n.º 36. Curva de EPA de amoxicilina-ácido clavulánico frente a *E. coli* NCTC 11560 (productor de TEM 1).

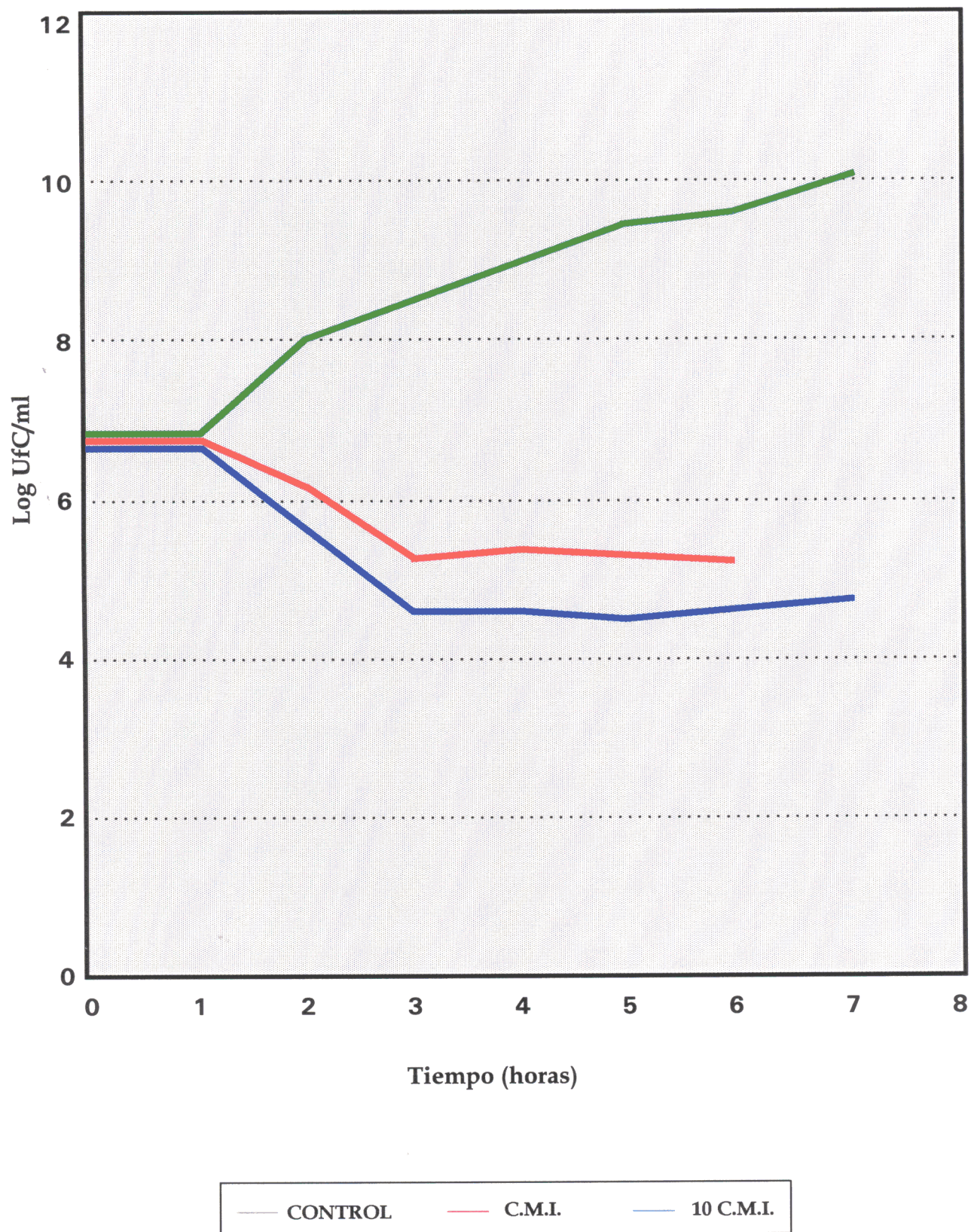


Gráfico n.º 37. Curva de crecimiento y letalidad de *E. coli* ATCC 25922 frente a cefuroxima.

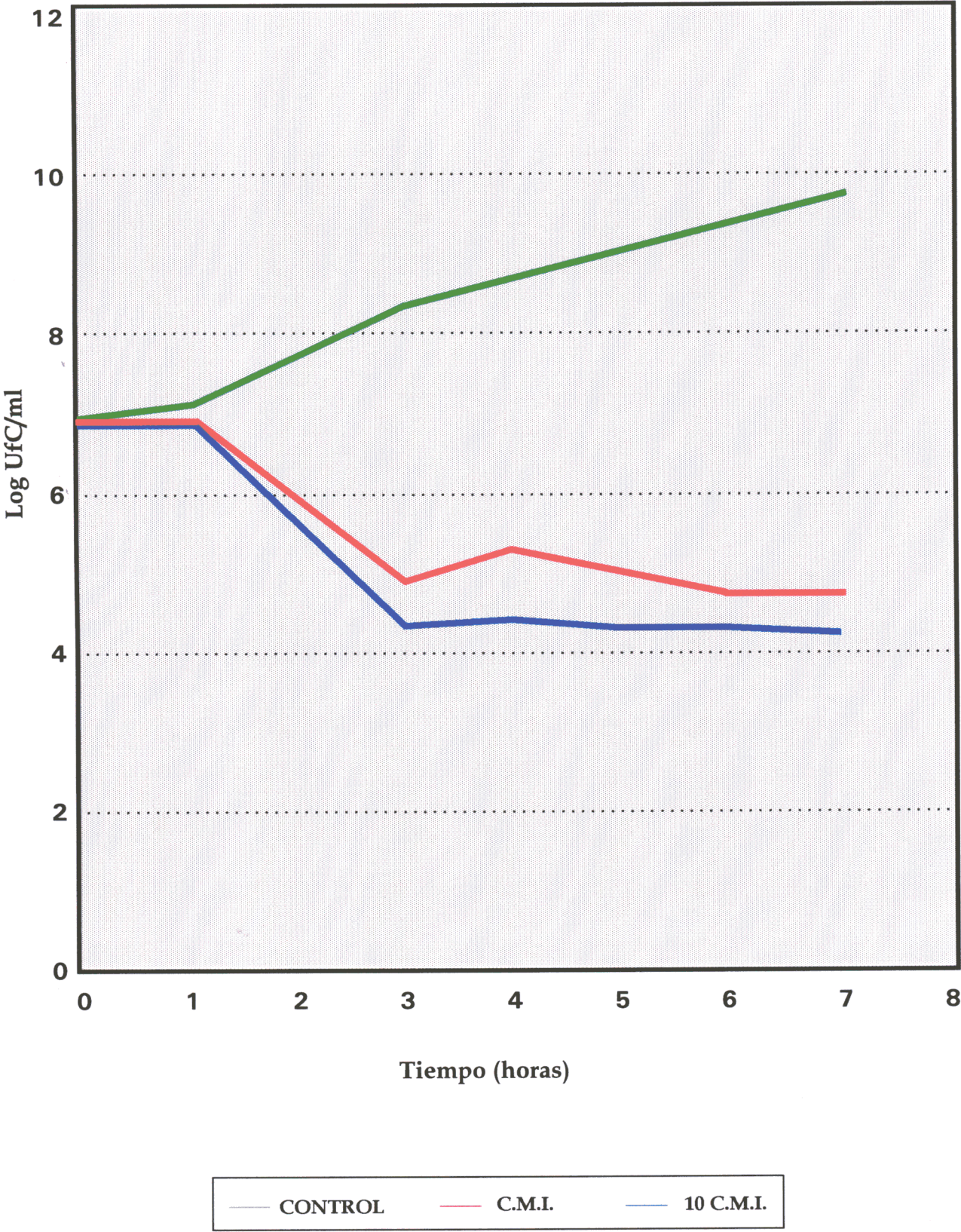


Gráfico n.º 38. Curva de crecimiento y letalidad de *E. coli* (hemolisina +) frente a cefuroxima.

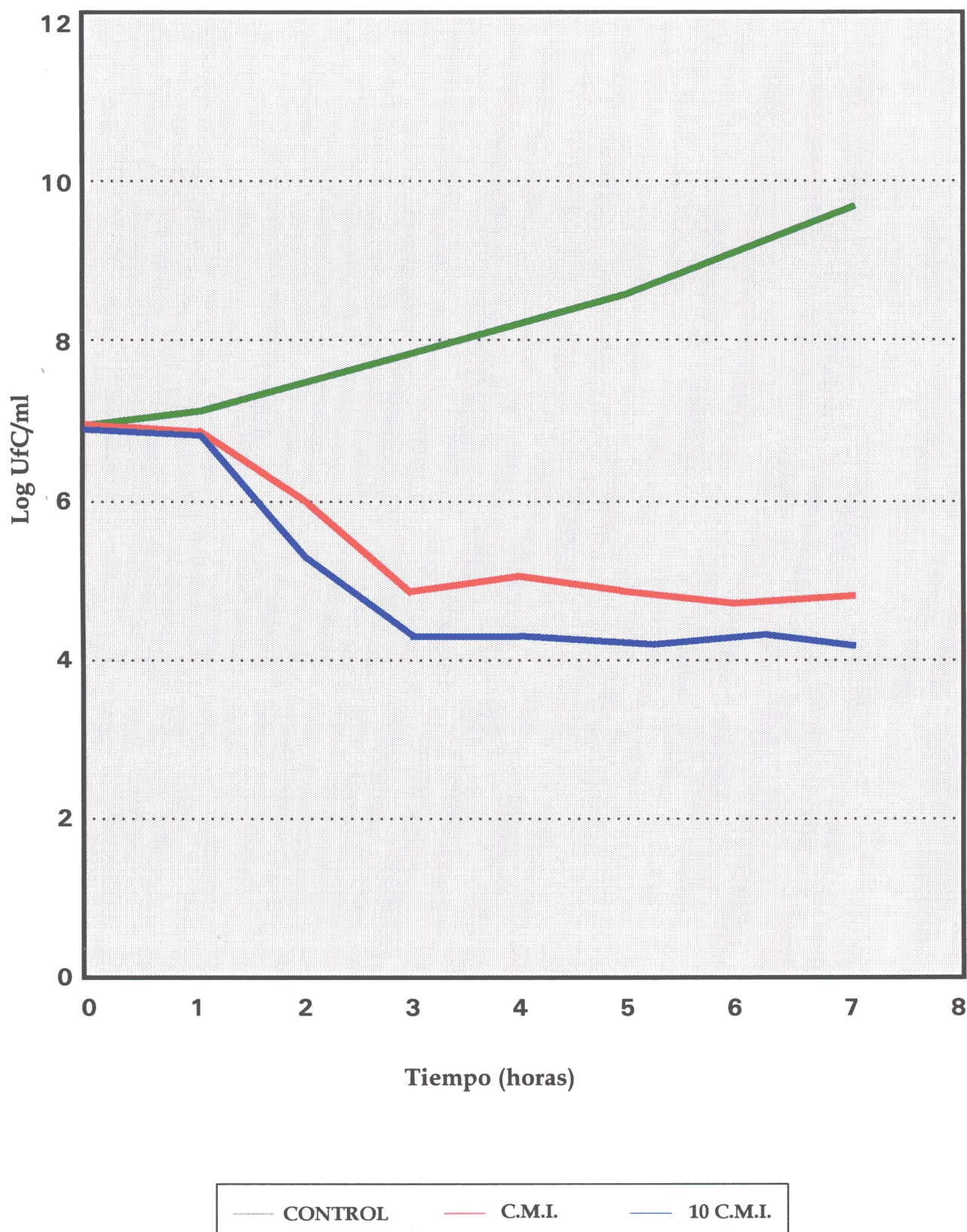


Gráfico n.º 39. Curva de crecimiento y letalidad de *E. coli* NCTC 11560 (productor de TEM 1) frente a cefuroxima.

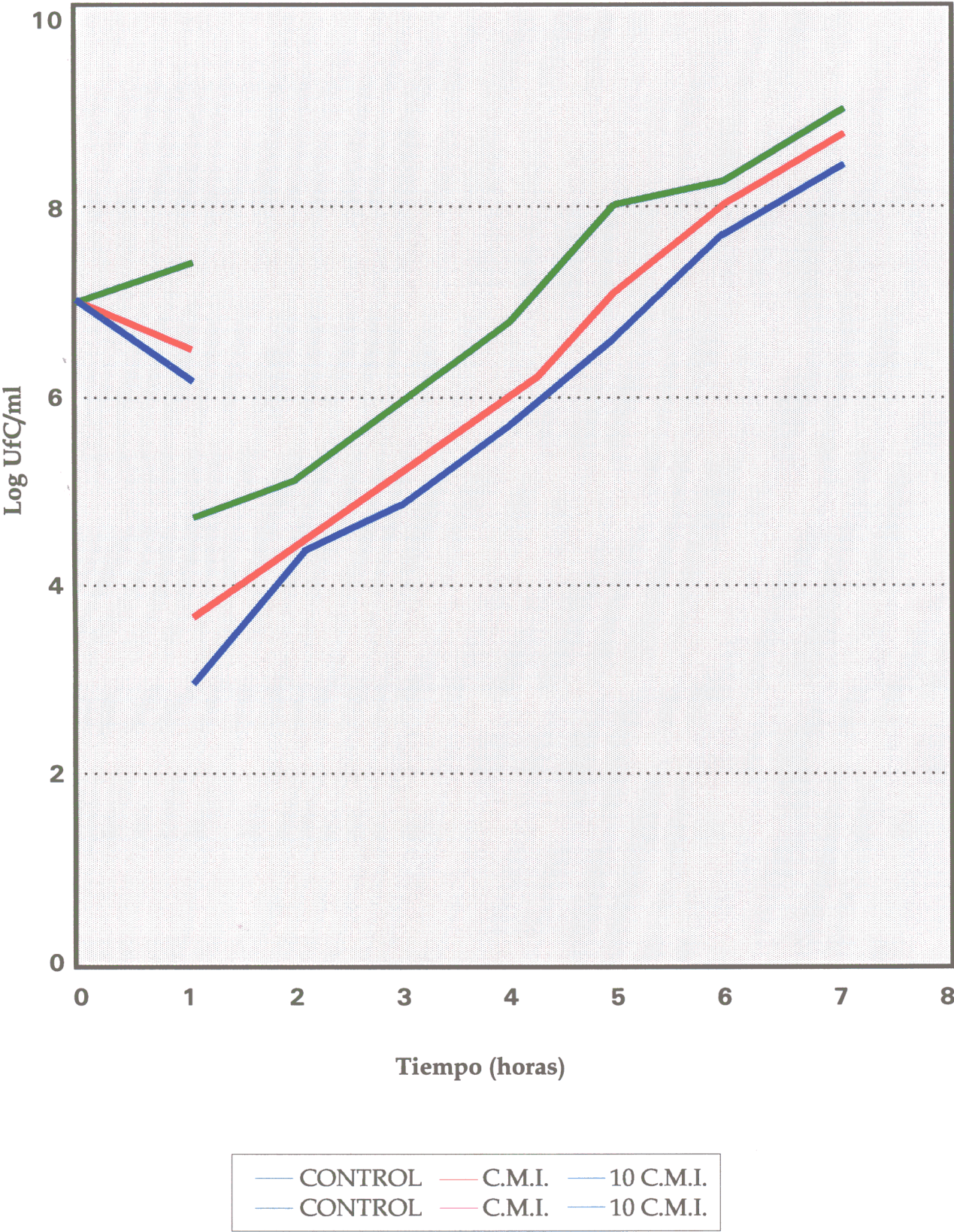


Gráfico n.º 40. Curva de EPA de cefuroxima frente a *E. coli* ATCC 25922.

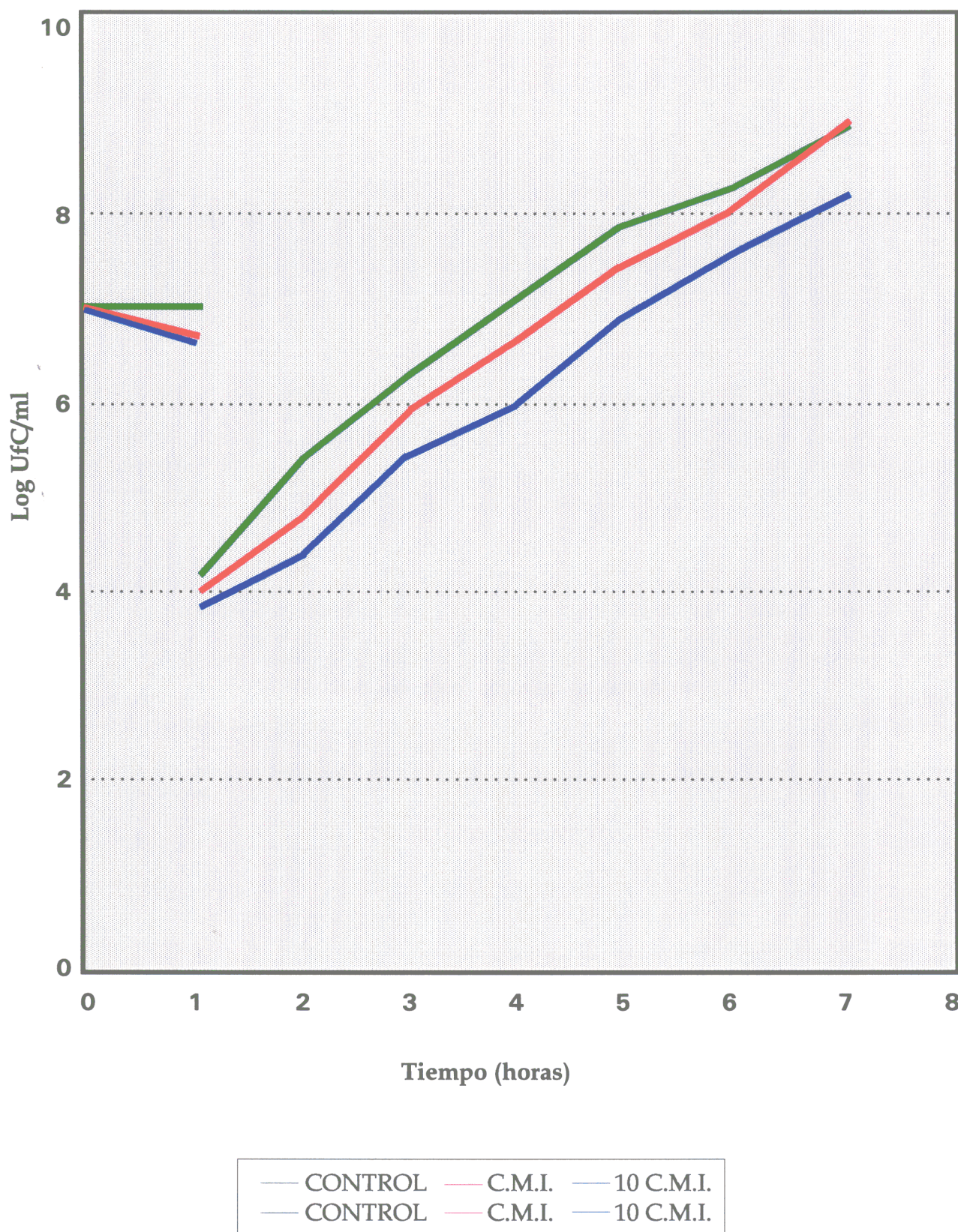


Gráfico n.º 41. Curva de EPA de cefuroxima frente a *E. coli* (hemolisina +).

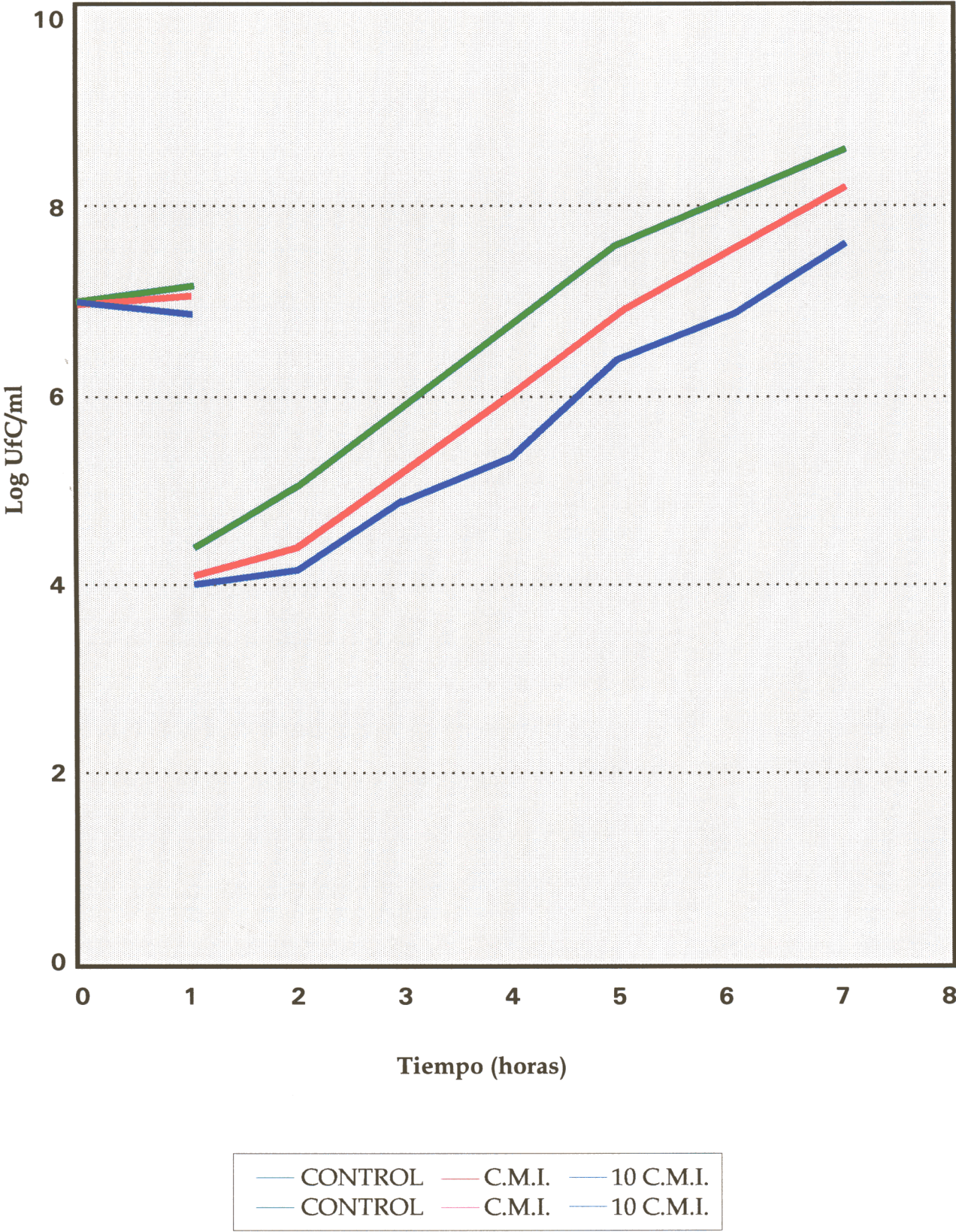


Gráfico n.º 42. Curva de EPA de cefuroxima frente a *E. coli* NCTC 11560 (productor de TEM).

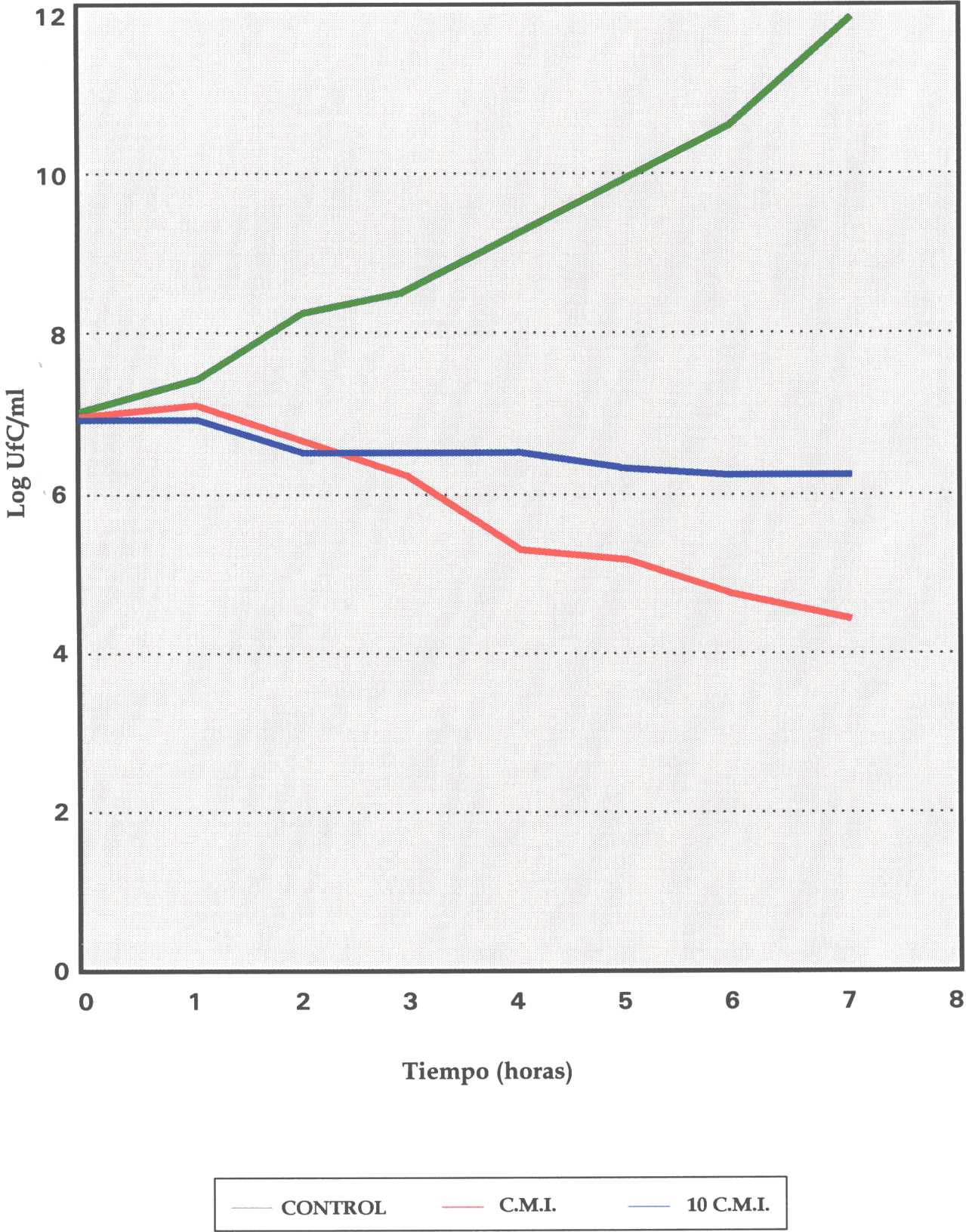


Gráfico n.º 43. Curva de crecimiento y letalidad de *E. coli* ATCC 25922 frente a cotrimoxazol.

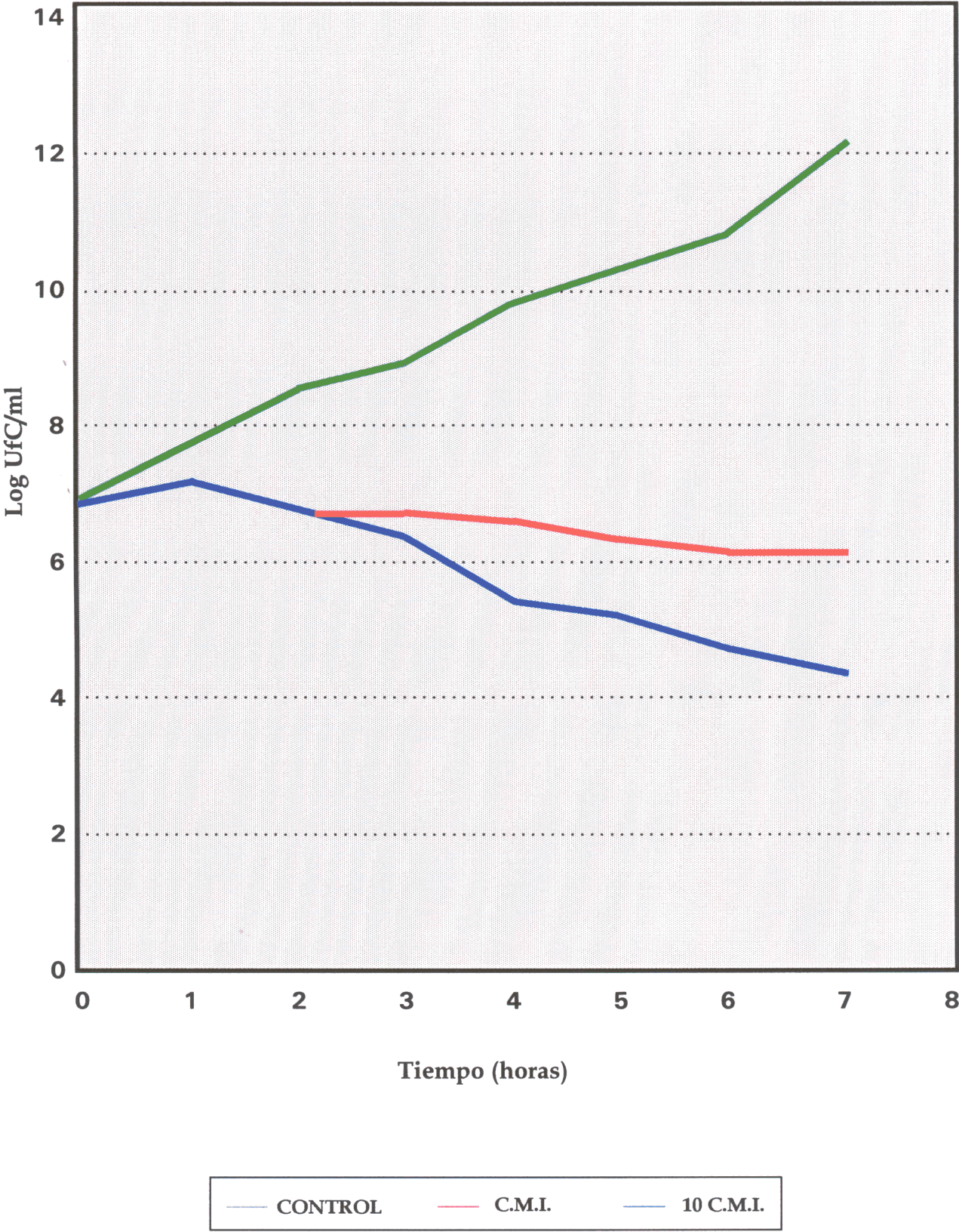


Gráfico n.º 44. Curva de crecimiento y letalidad de *E. coli* (hemolisina +) frente a cotrimoxazol.

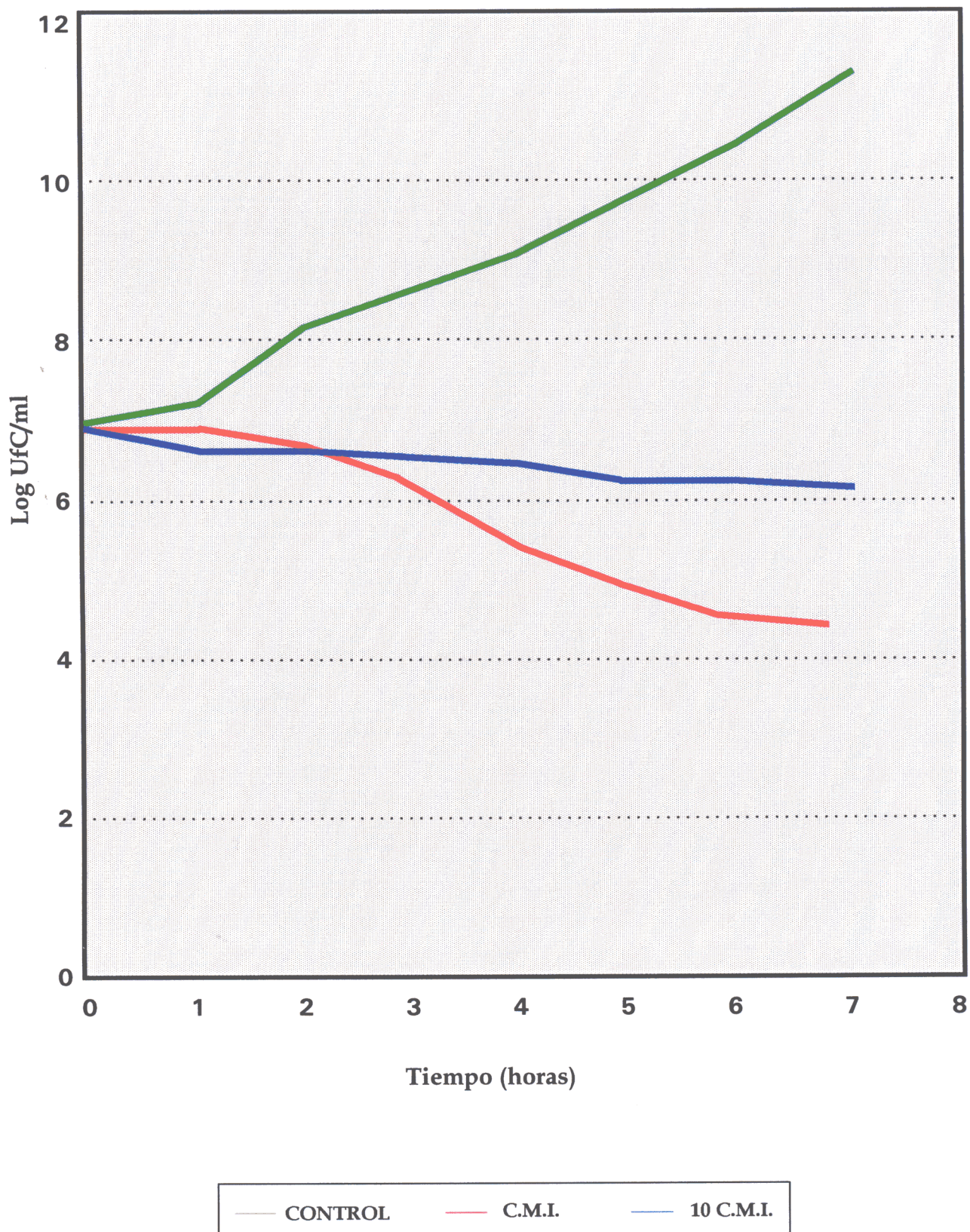


Gráfico n.º 45. Curva de crecimiento y letalidad de *E. coli* NCTC 11560 frente a cotrimoxazol.

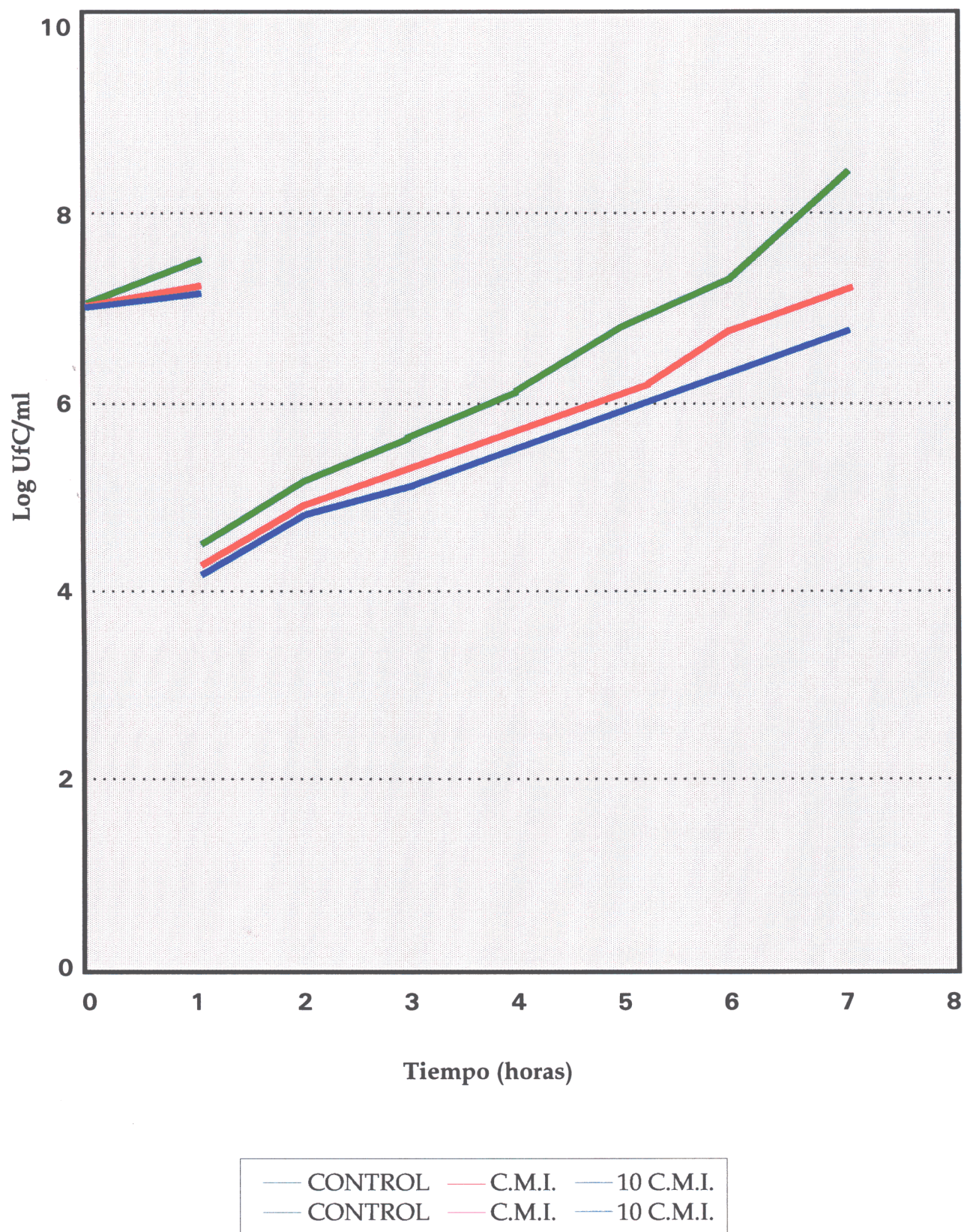


Gráfico n.º 46. Curva de EPA de cotrimoxazol frente a *E. coli* ATCC 25922.

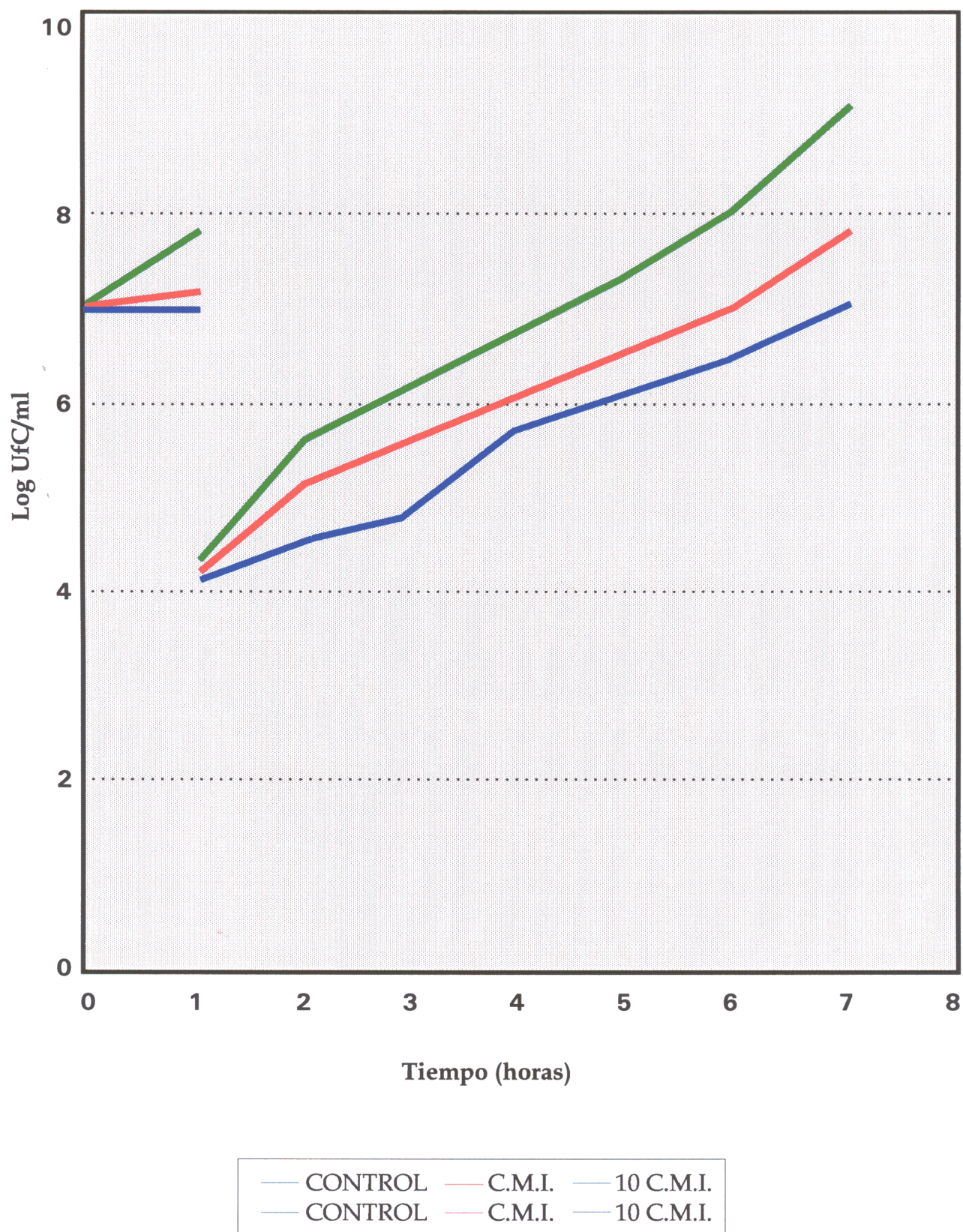


Gráfico n.º 47. Curva de EPA de cotrimoxazol frente a *E. coli* (hemolisina +).

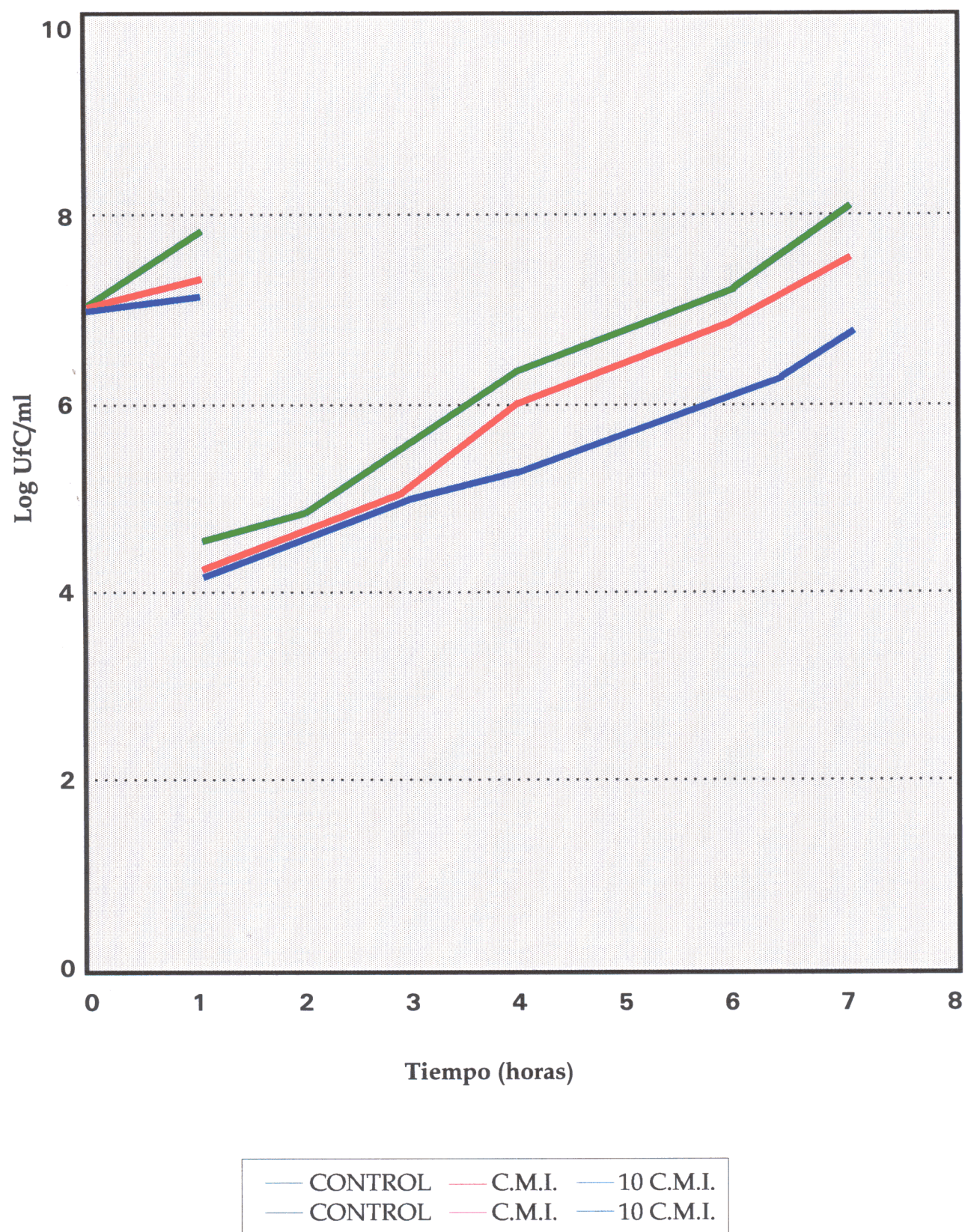


Gráfico n.º 48. Curva de EPA de cotrimoxazol frente a *E. coli* NCTC 11560 (productor de TEM 1).

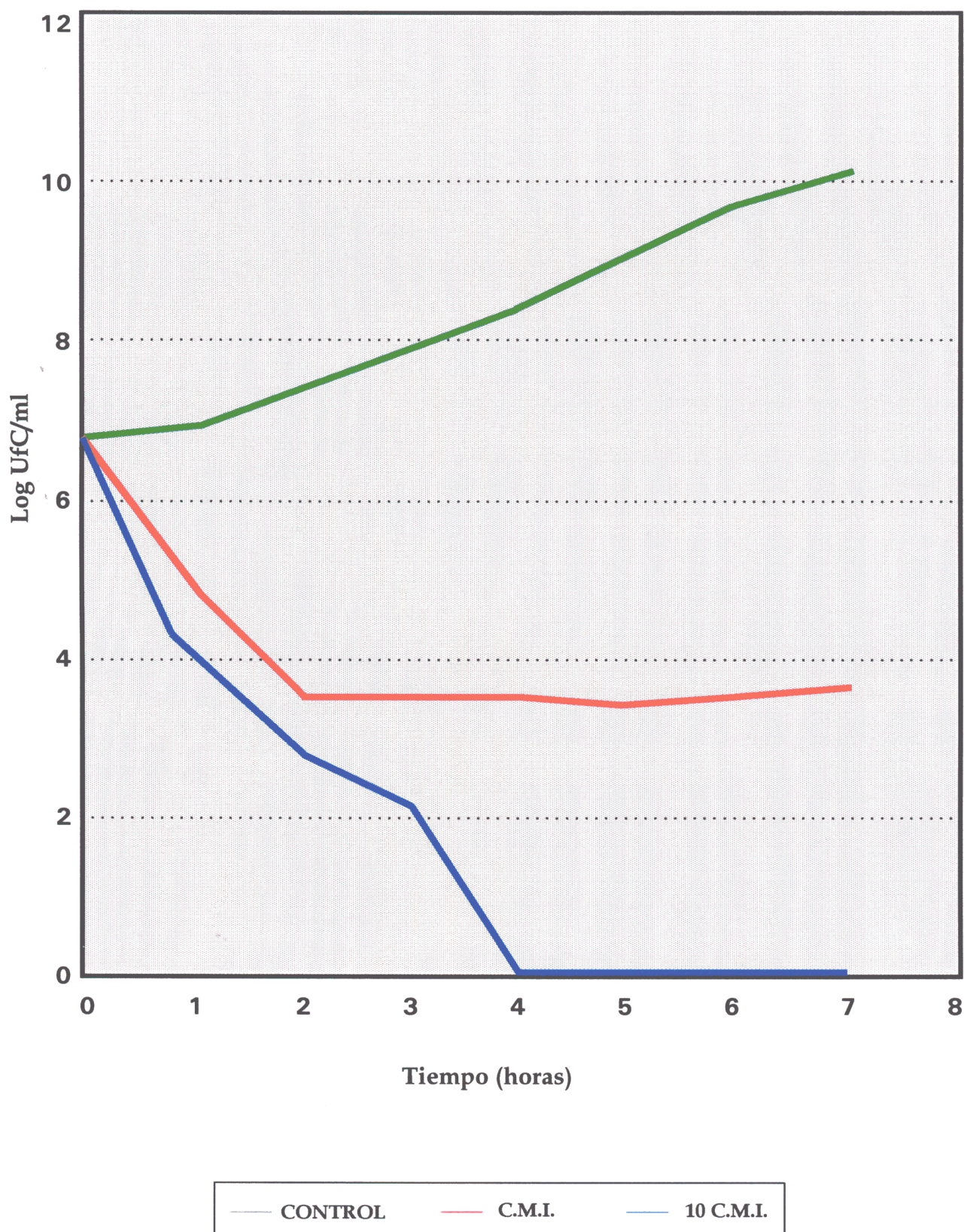


Gráfico n.º 49. Curva de crecimiento y letalidad de *E. coli* ATCC 25922 frente a fosfomicina.

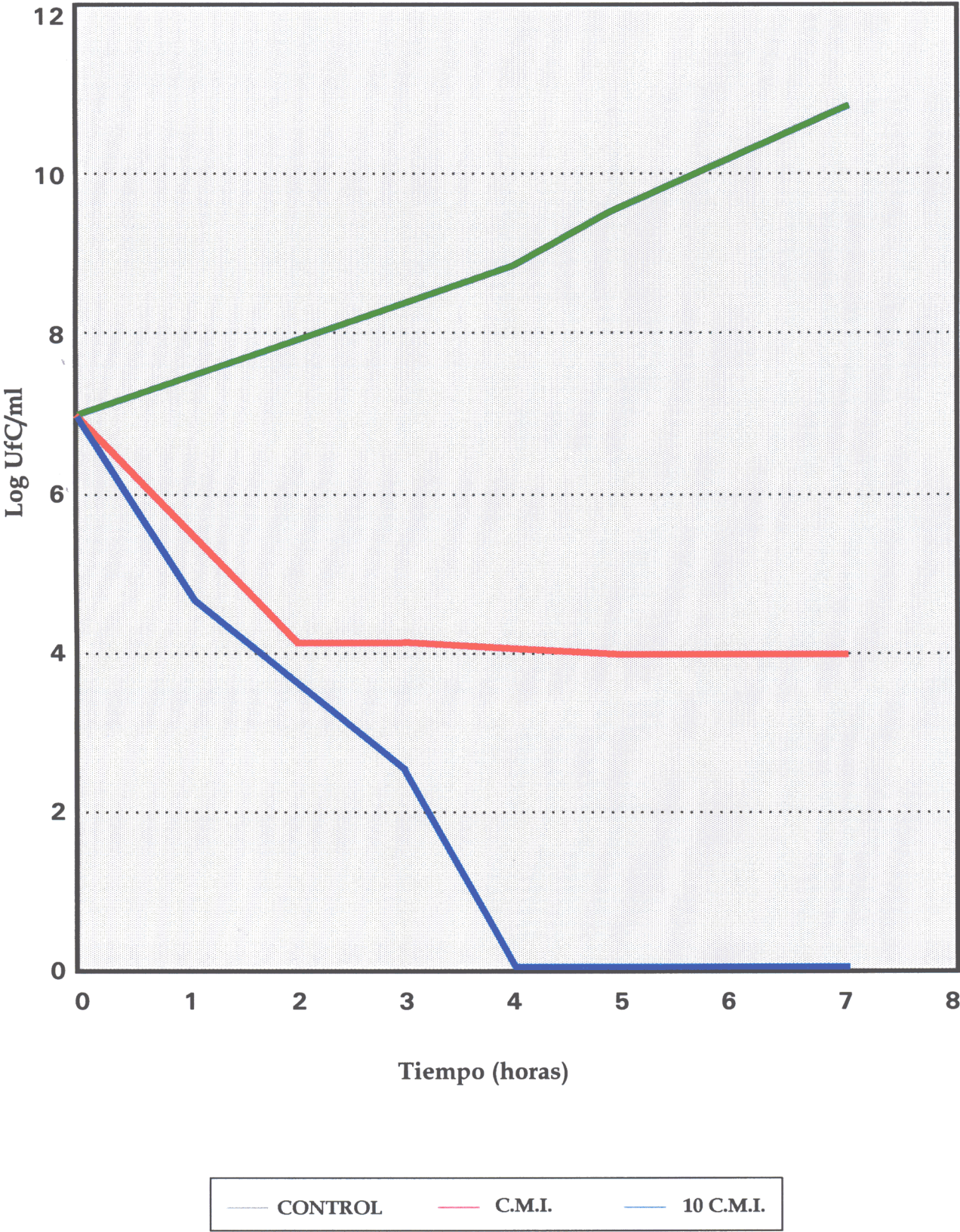


Gráfico n.º 50. Curva de crecimiento y letalidad de *E. coli* (hemolisinas +) frente a fosfomicina.

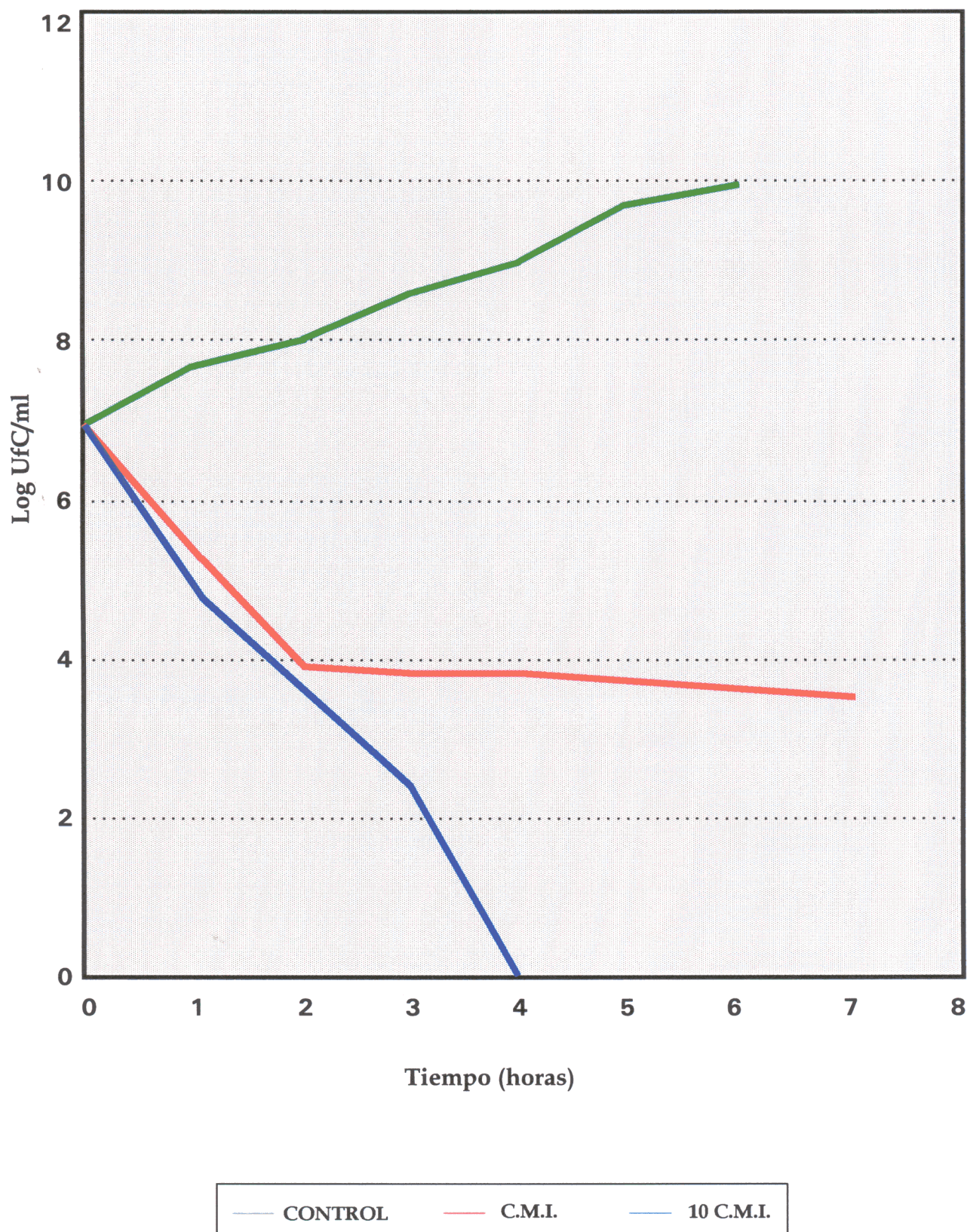


Gráfico n.º 51. Curva de crecimiento y letalidad de *E. coli* NCTC 11560 (productor de TEM 1) frente a fosfomicina.

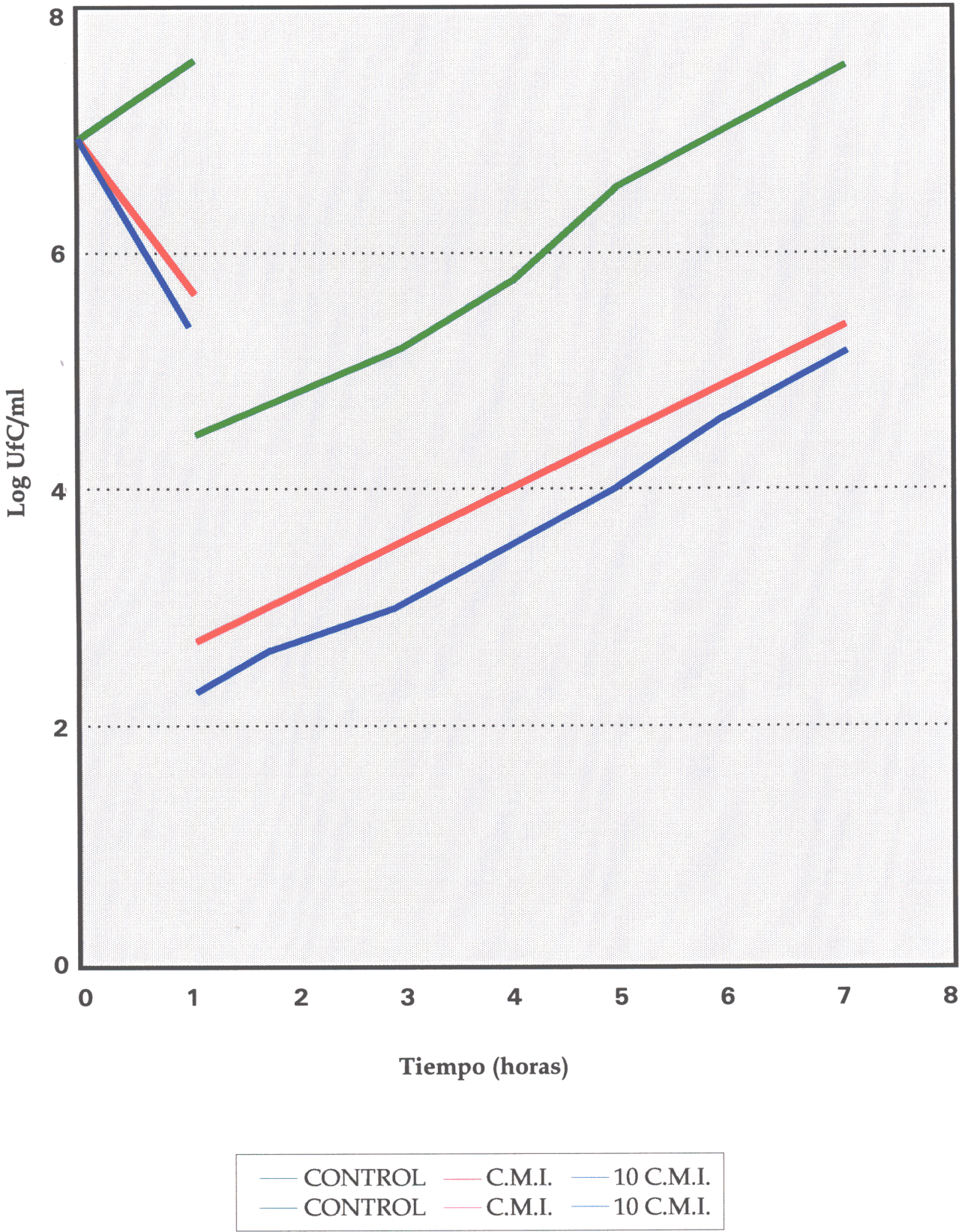


Gráfico n.º 52. Curva de EPA de fosfomicina frente a *E. coli* ATCC 25922.

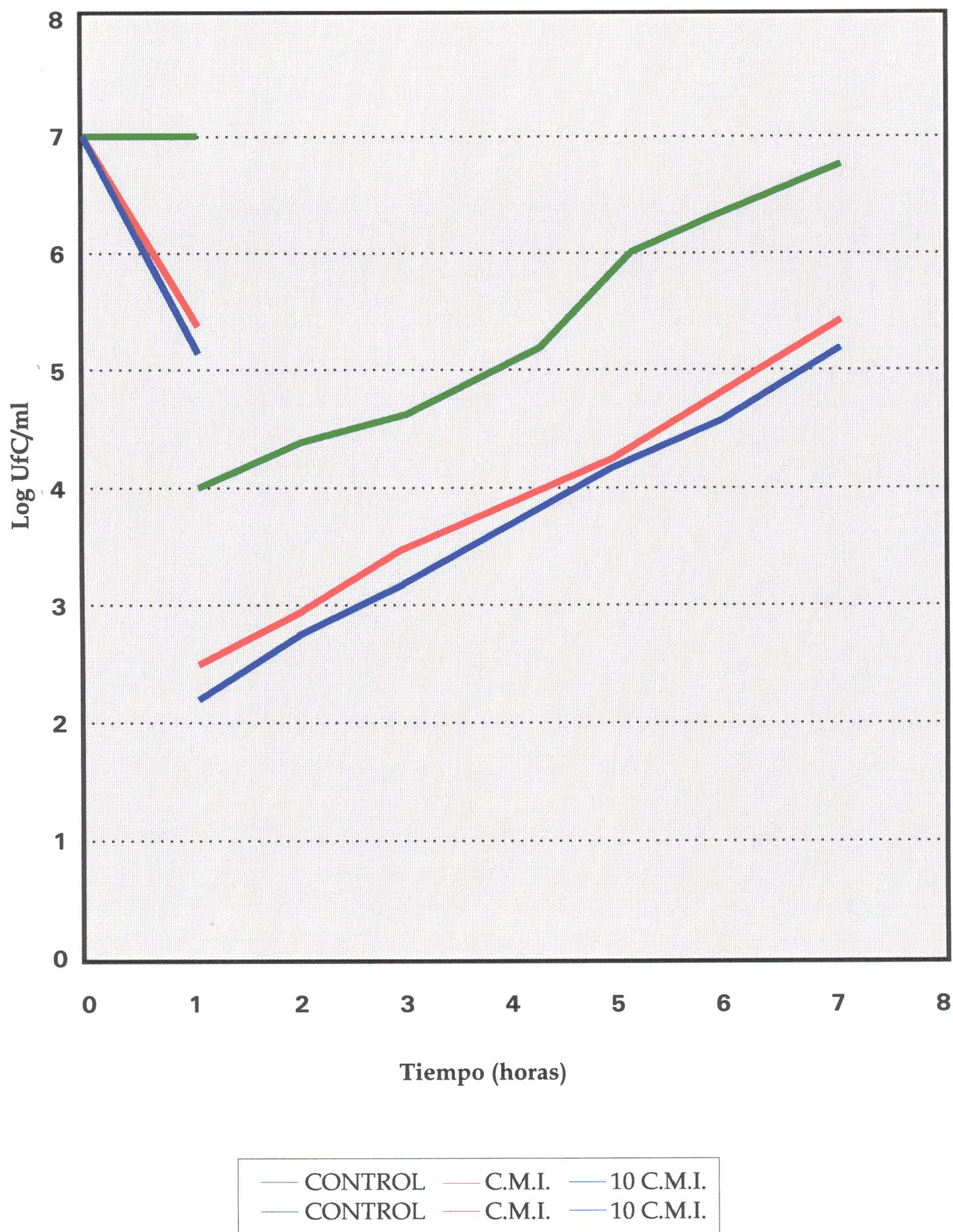


Gráfico n.º 53. Curva de EPA de fosfomicina frente a *E. coli* (hemolisina +).

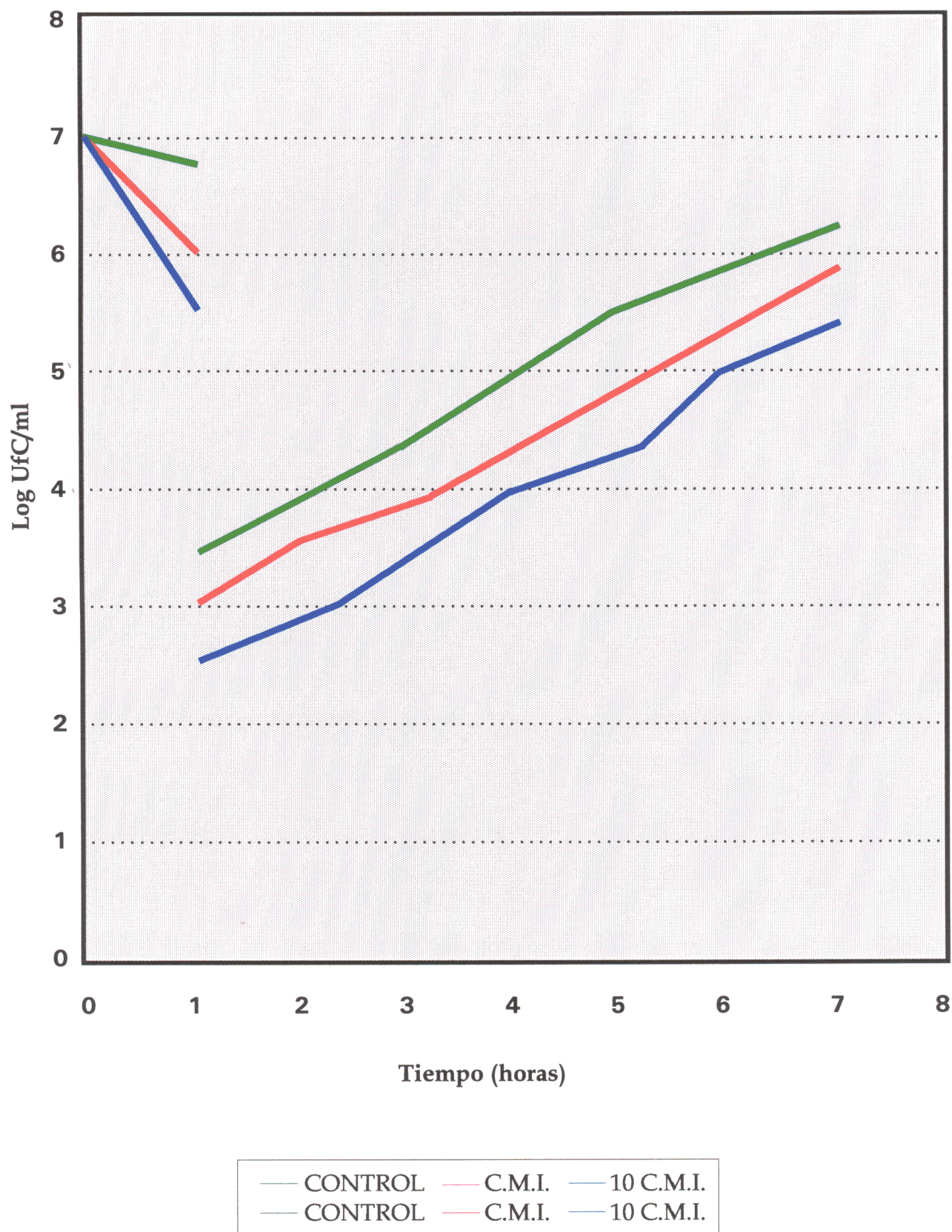


Gráfico n.º 54. Curva de EPA de fosfomicina frente a *E. coli* 11560 (productor de TEM 1).

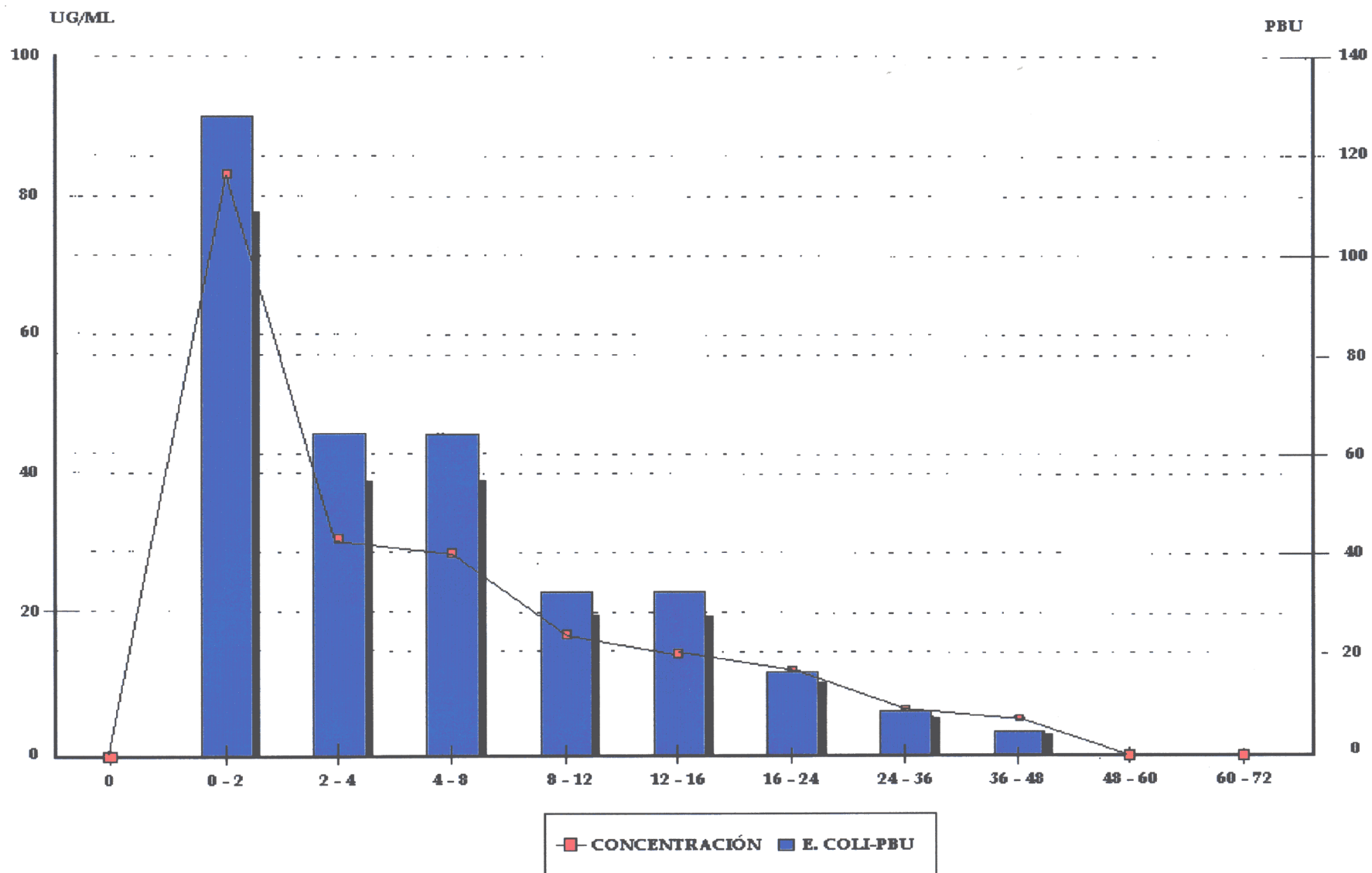


Gráfico n.º 55. Curva de PBU de norfloxacin frente a *E. coli* cepa 25922 en voluntario 1.

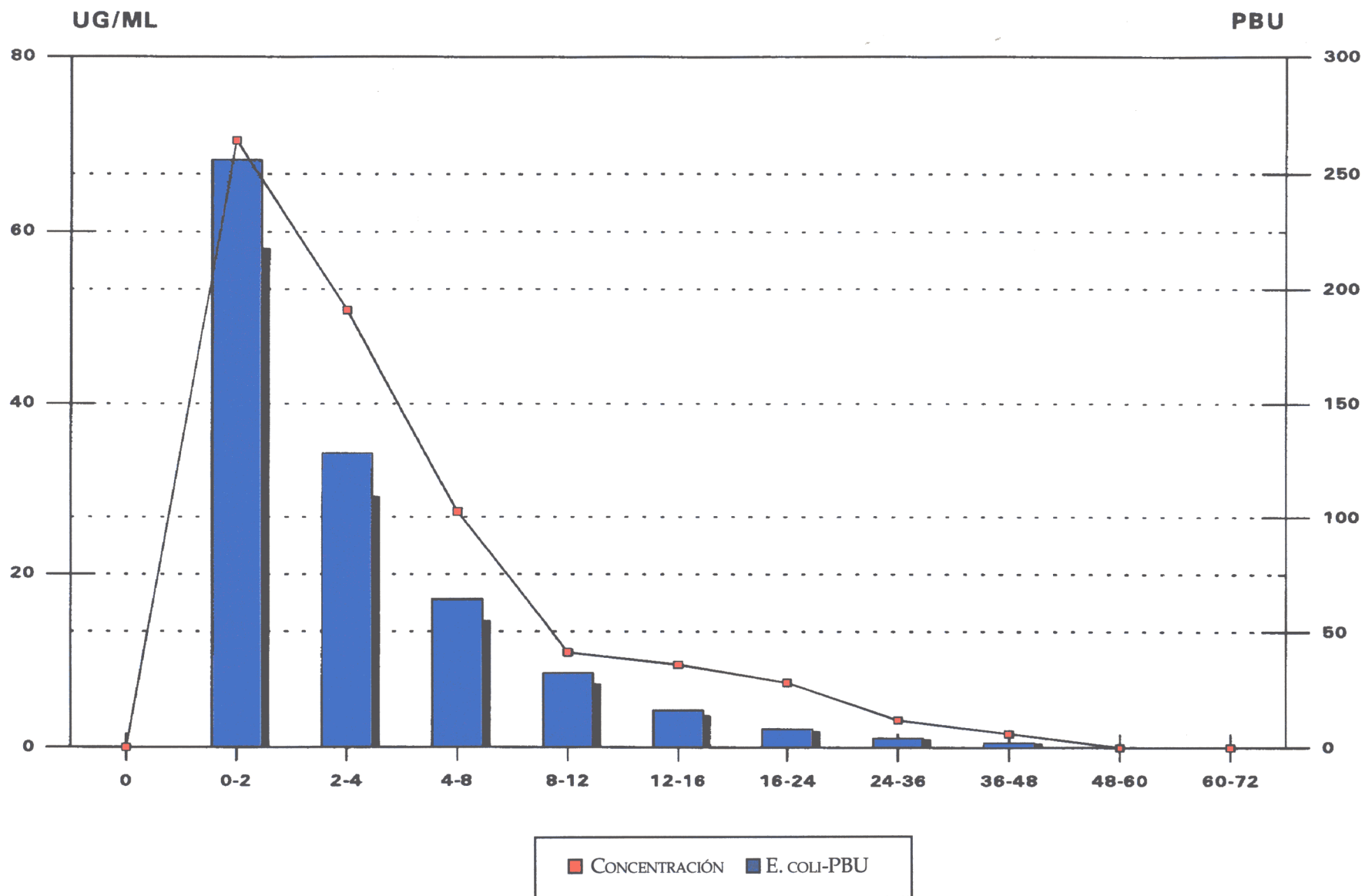


Gráfico n.º 56. Curva de PBU de norfloxacino frente a *E. coli* cepa 25922 en voluntario 2.

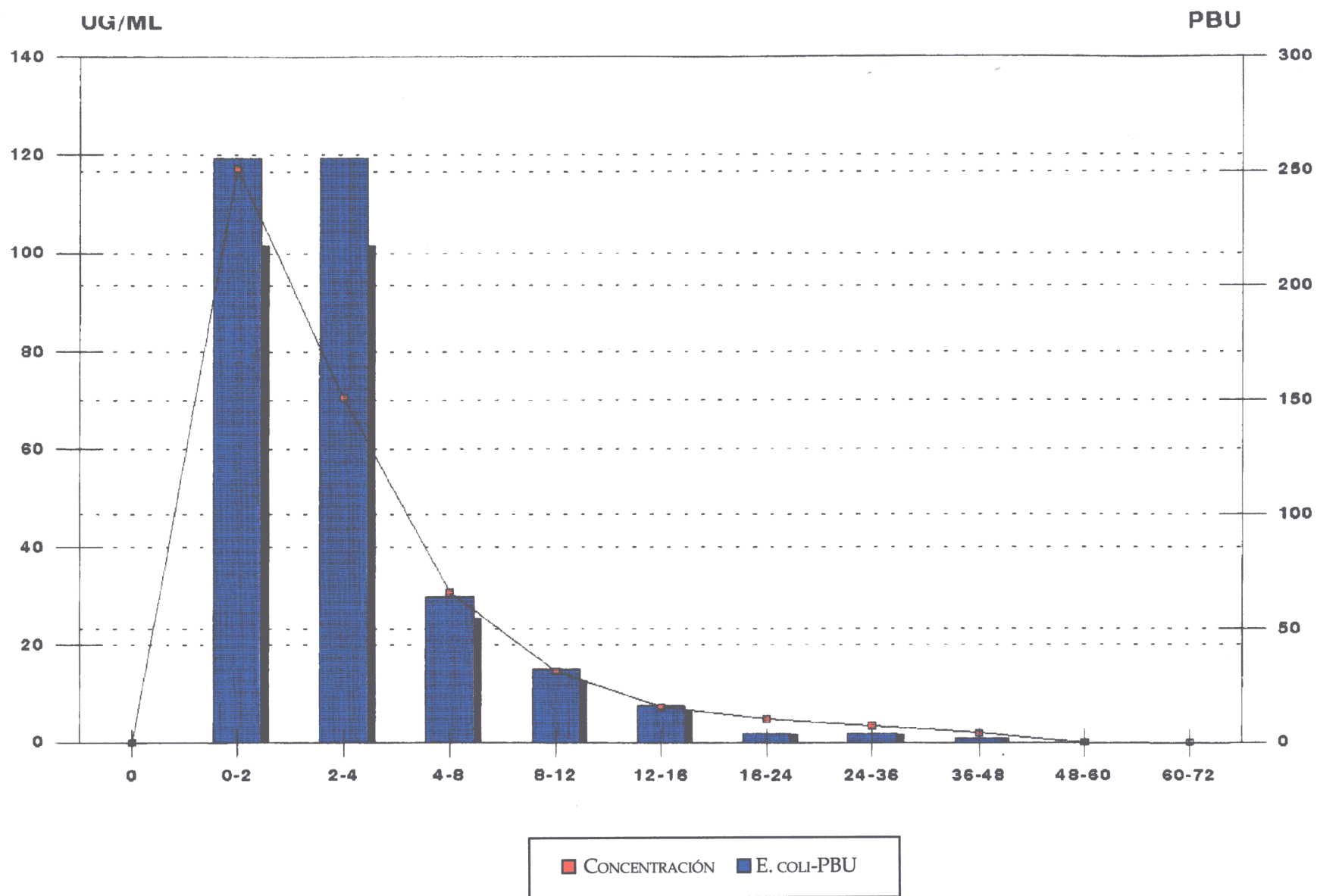


Gráfico n.º 57. Curva de PBU de norfloxacino frente a *E. coli* cepa 25922 en voluntario 3.

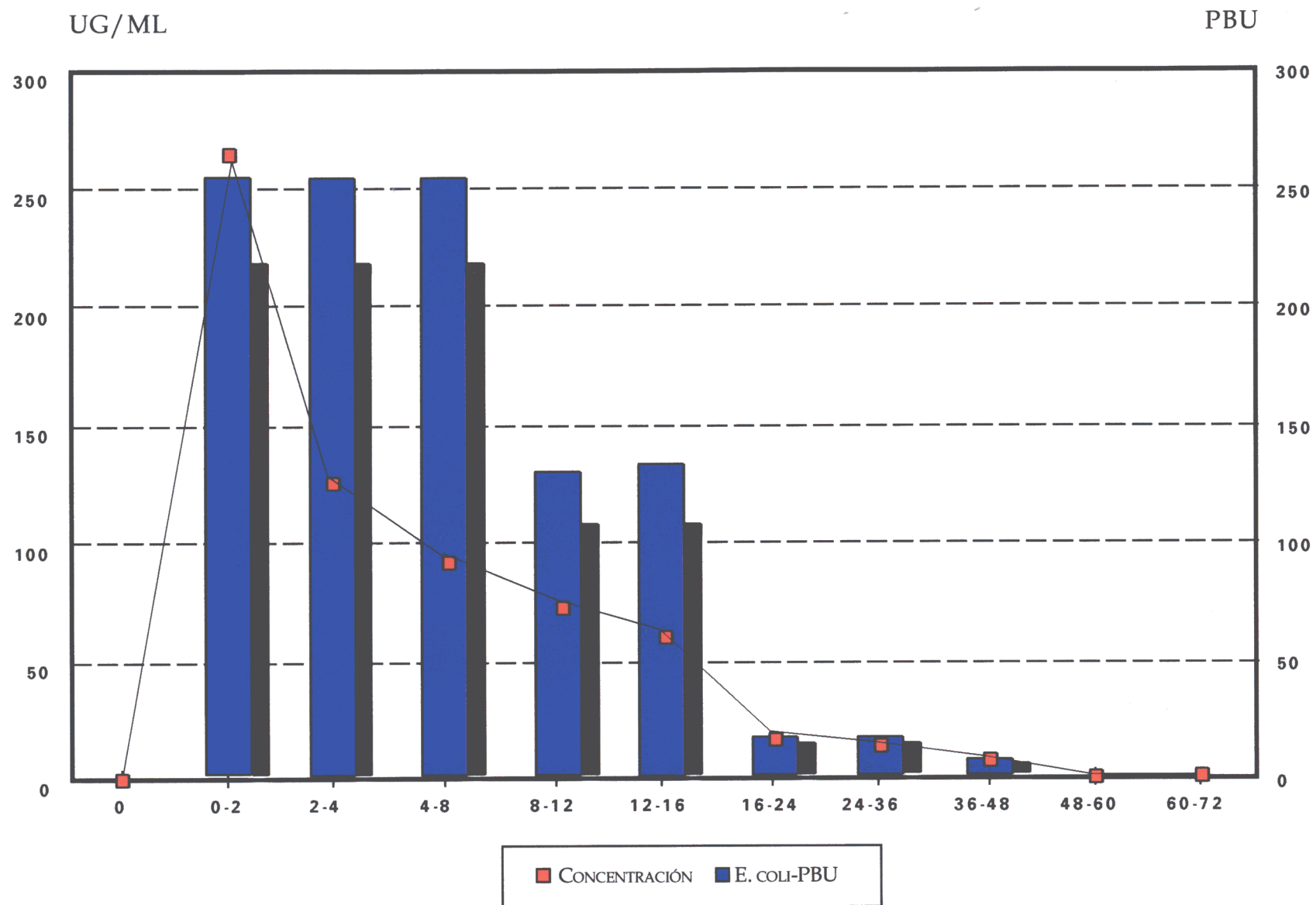


Gráfico n.º 58. Curva de PBU de norfloxacino frente a *E. coli* cepa 25922 en voluntario 4.

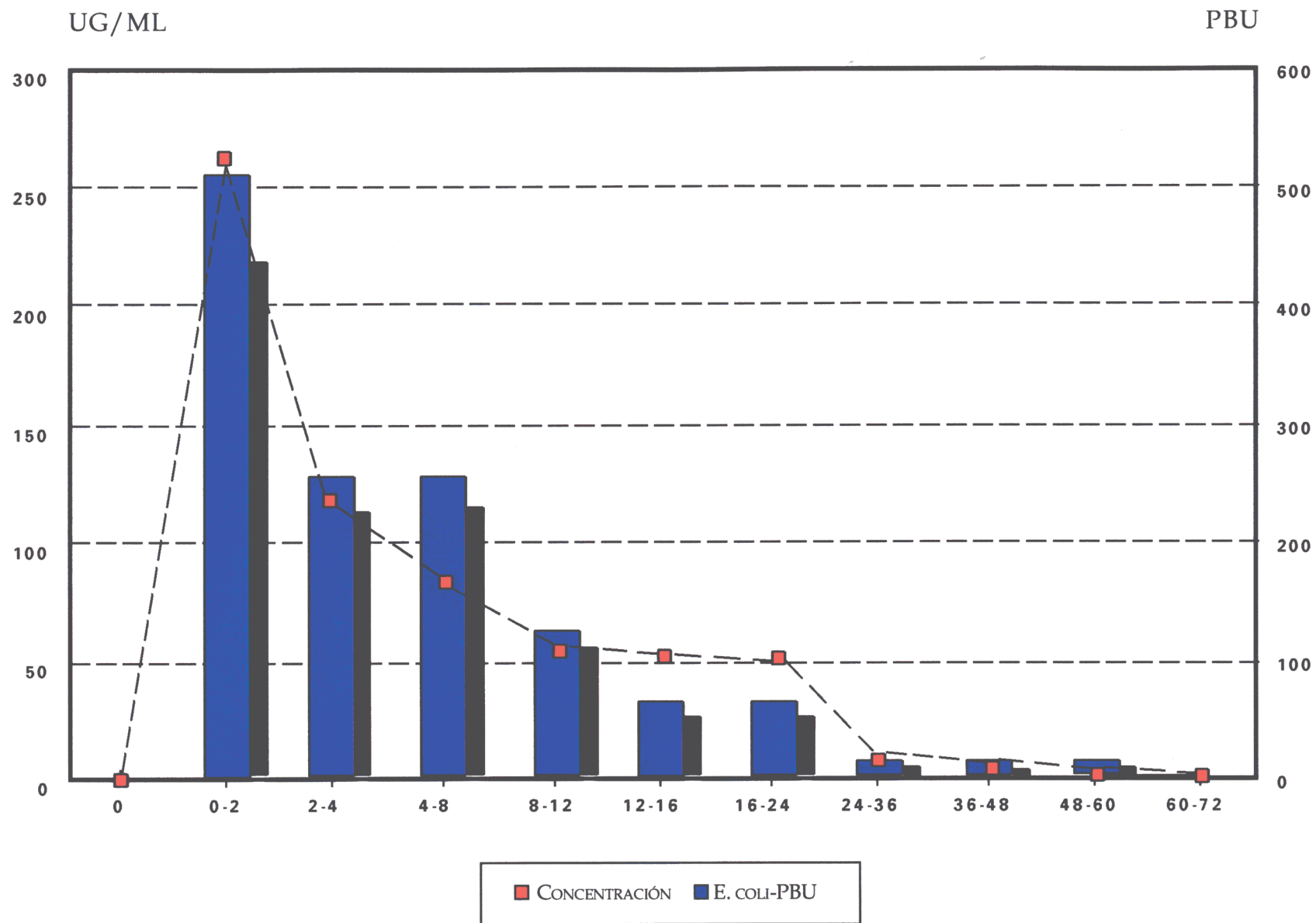


Gráfico n.º 59. Curva de PBU de norfloxacino frente a E. coli cepa 25922 en voluntario 5.

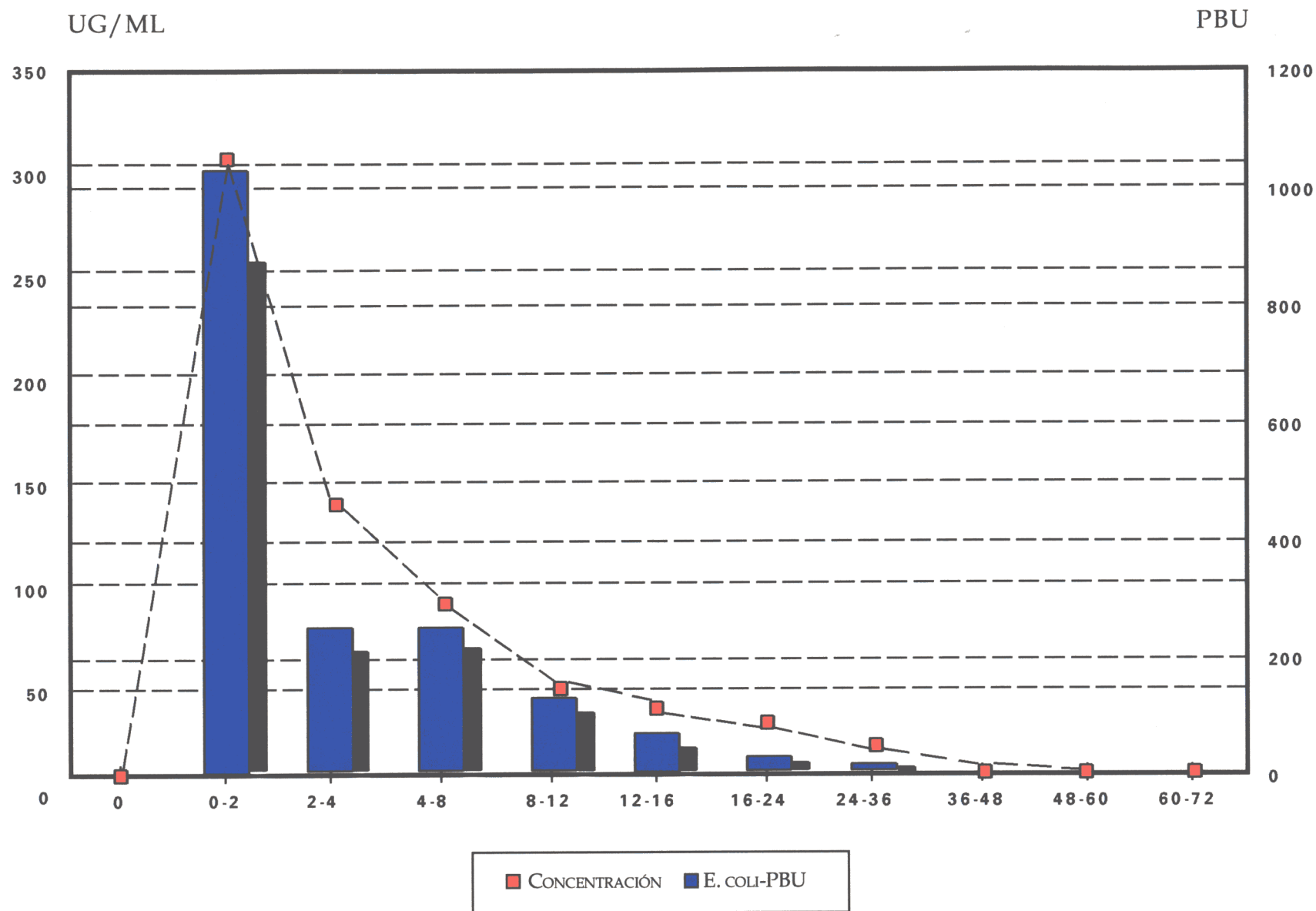


Gráfico n.º 60. Curva de PBU de norfloxacin frente a E. coli cepa 25922 en voluntario 6.

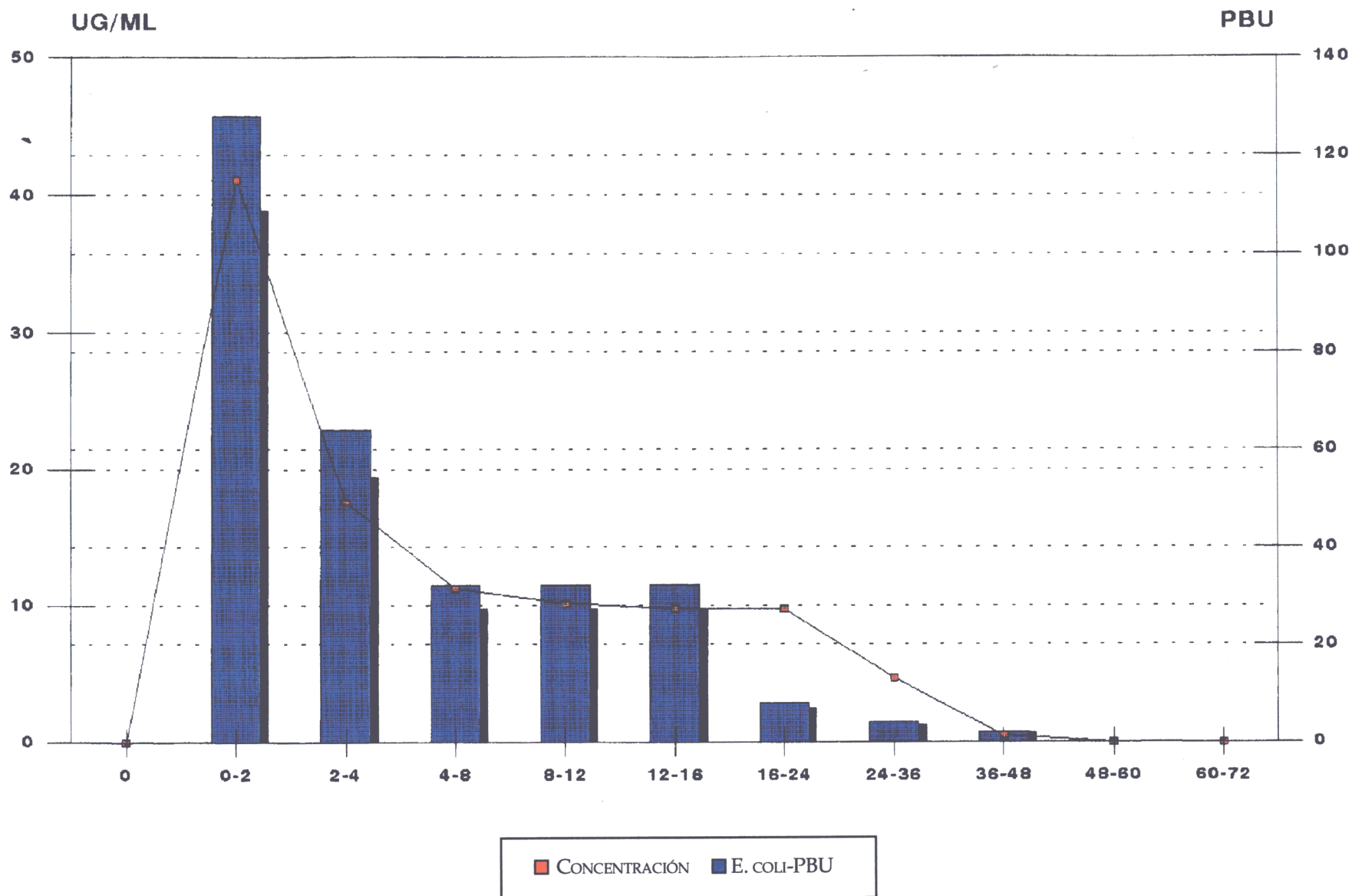


Gráfico n.º 61. Curva de PBU de norfloxacino frente a *E. coli* cepa 25922 en voluntario 7.

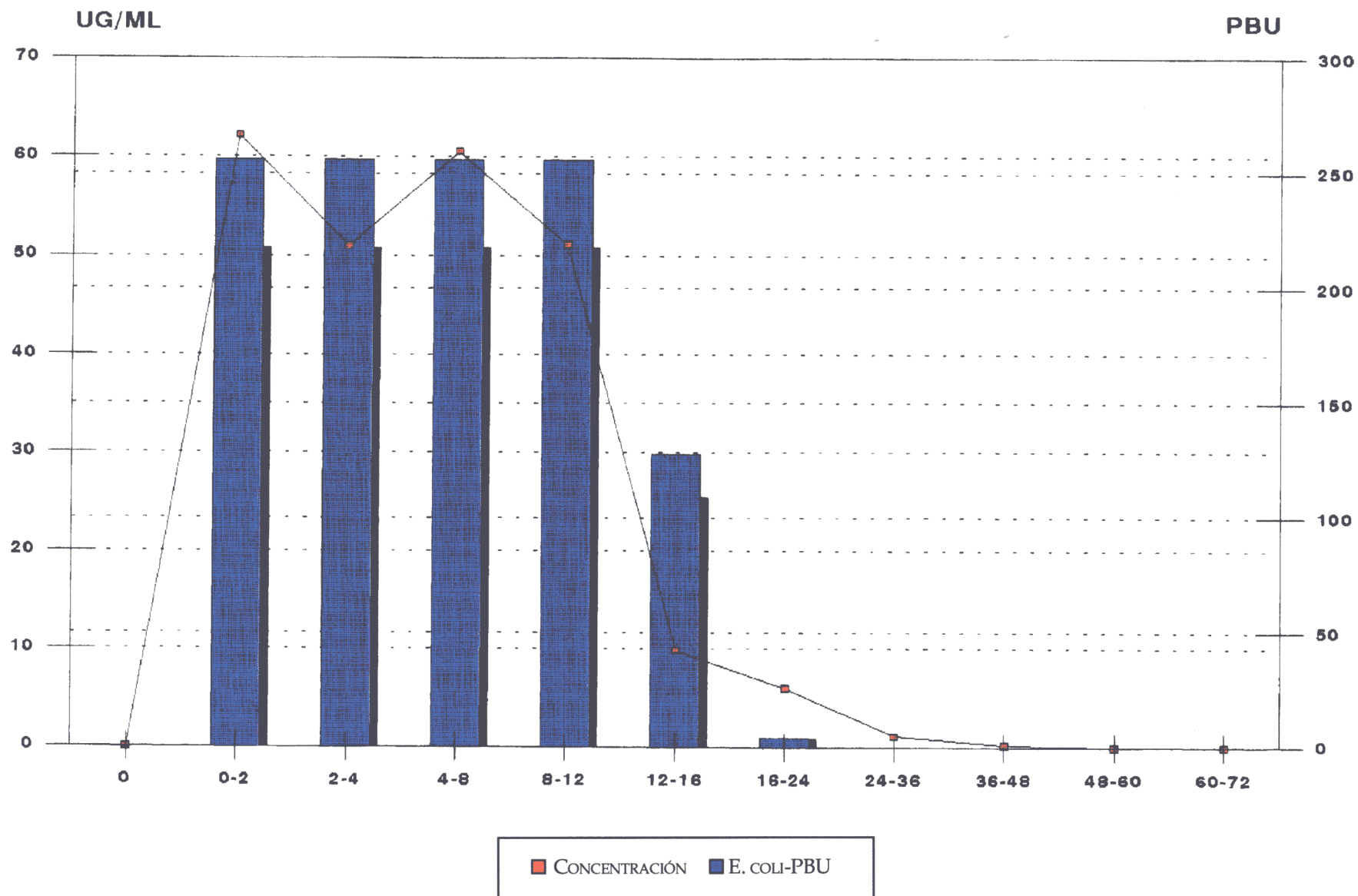


Gráfico n.º 62. Curva de PBU de norfloxacino frente a *E. coli* cepa 25922 en voluntario 8.

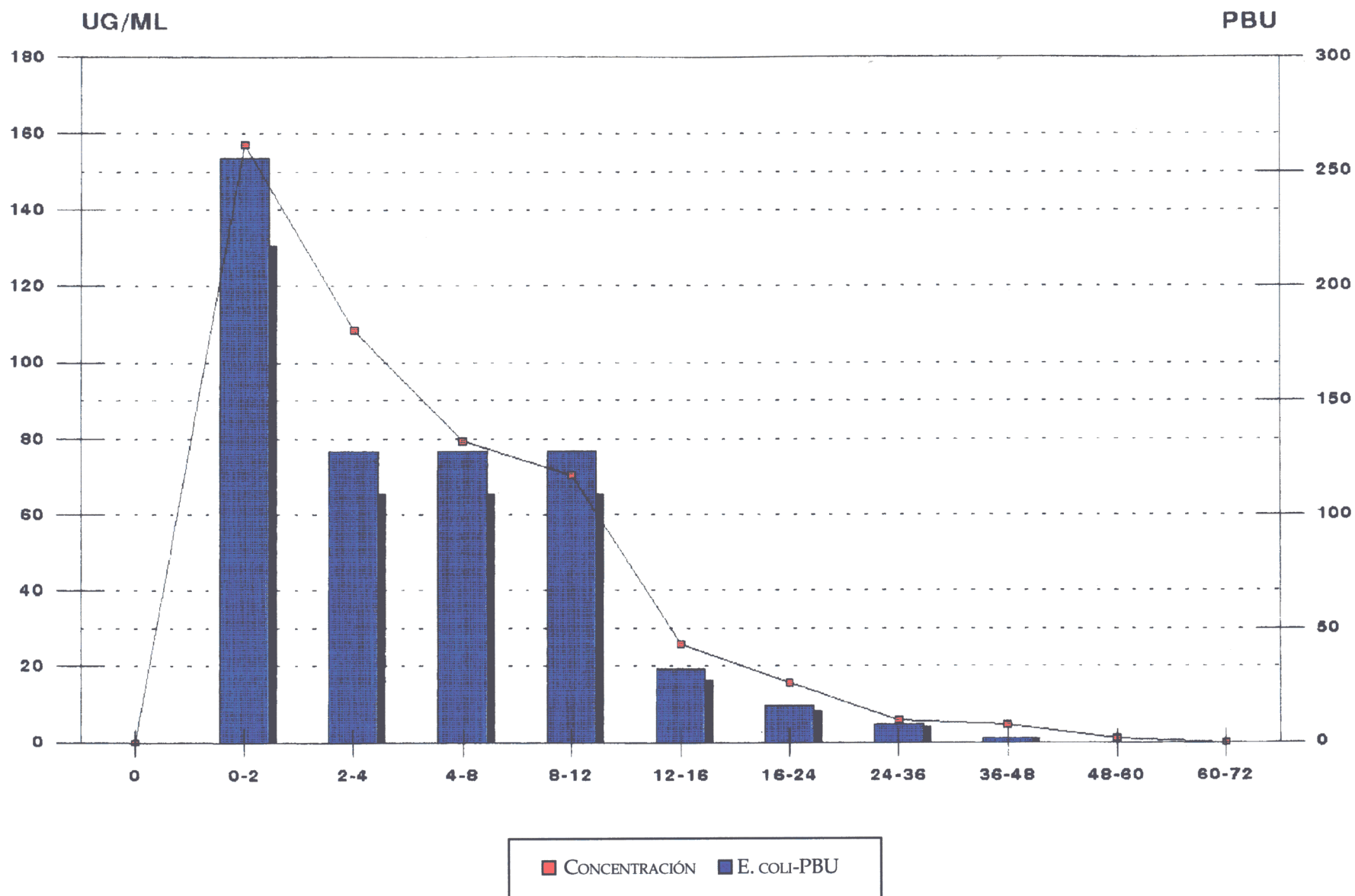


Gráfico n.º 63. Curva de PBU de norfloxacino frente a *E. coli* cepa 25922 en voluntario 9.

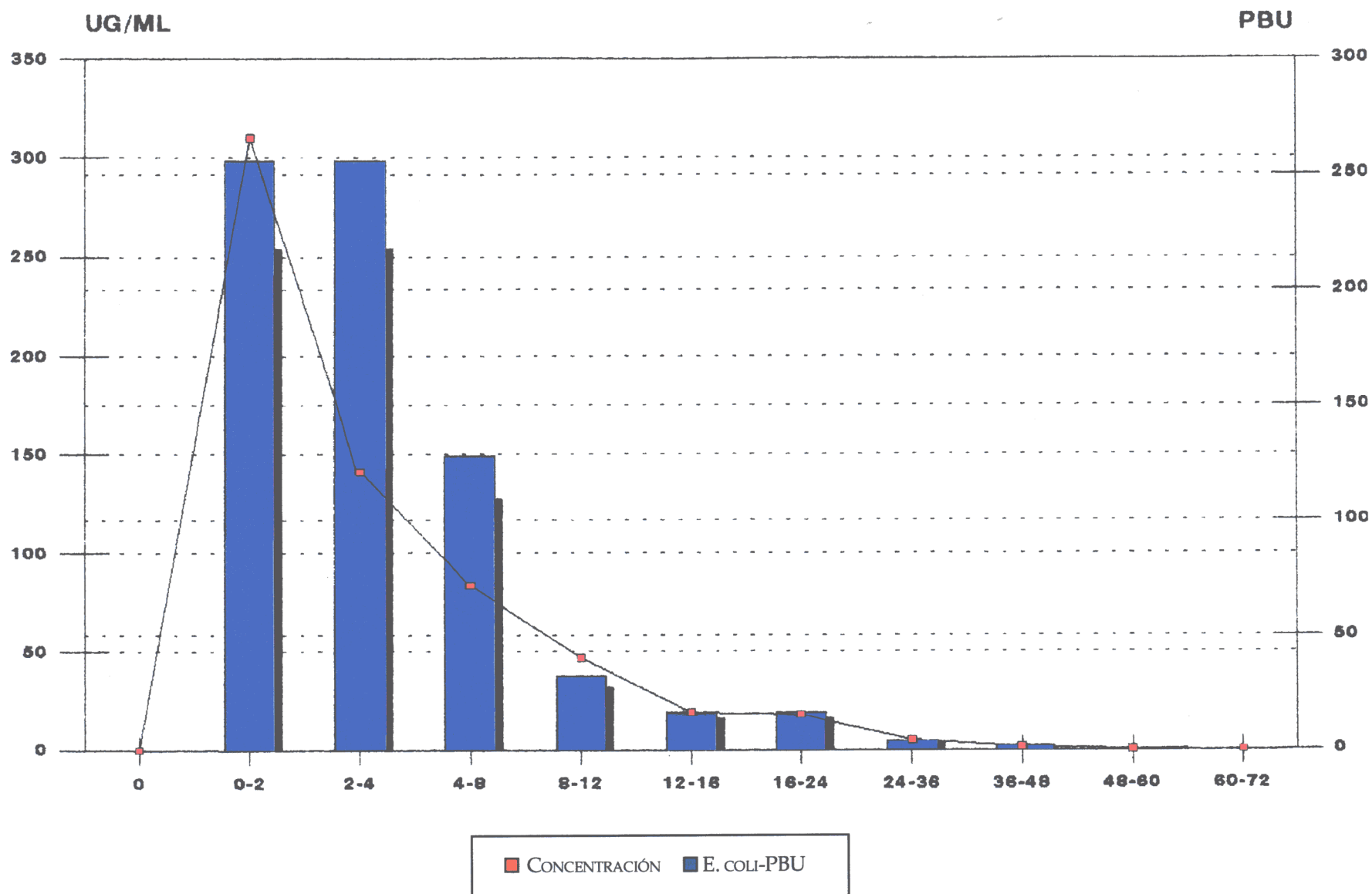


Gráfico n.º 64. Curva de PBU de norfloxacino frente a *E. coli* cepa 25922 en voluntario 10.

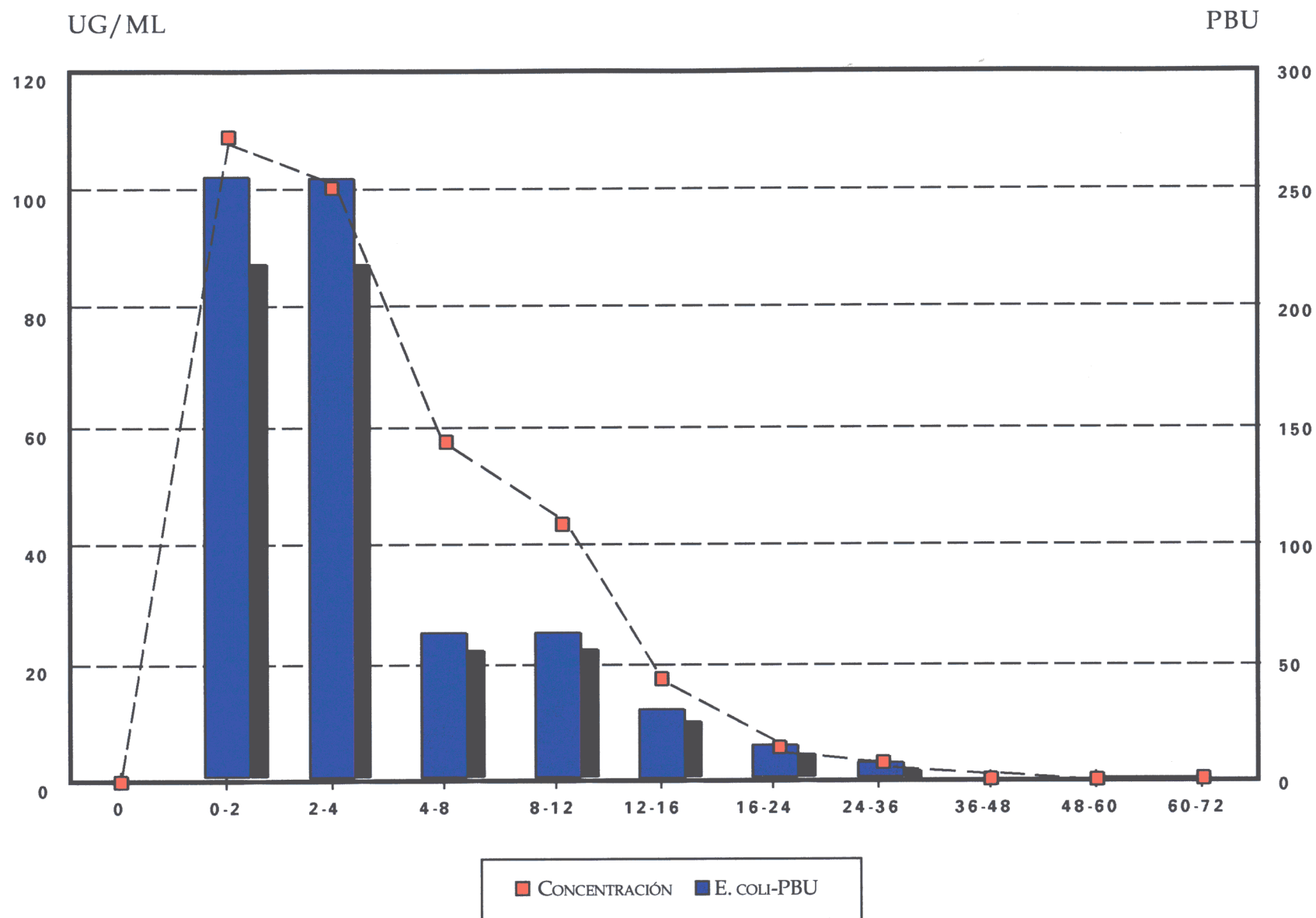


Gráfico n.º 65. Curva de PBU de norfloxacino frente a *E. coli* cepa 25922 en voluntario 11.

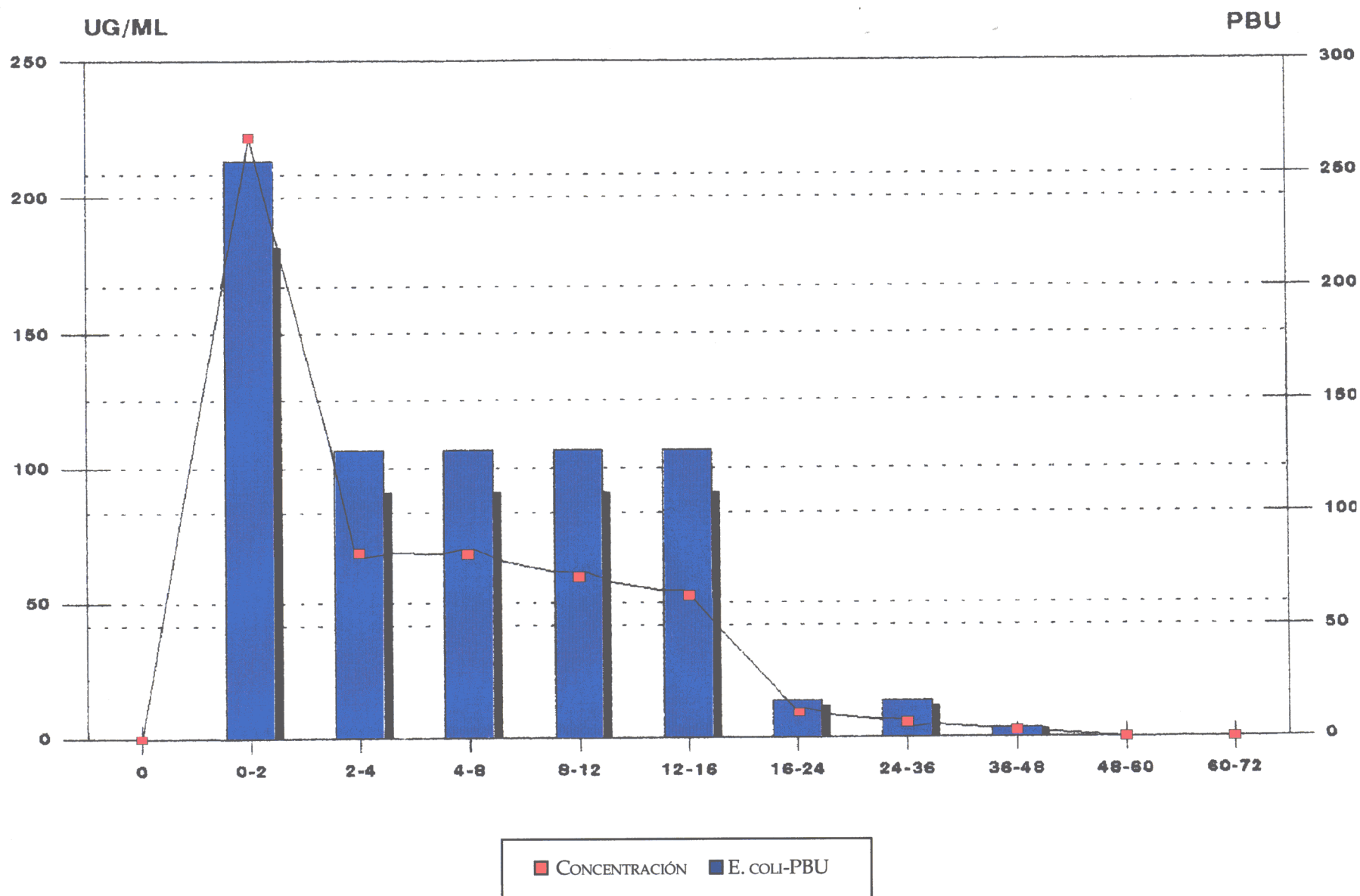


Gráfico n.º 66. Curva de PBU de norfloxacinó frente a *E. coli* cepa 25922 en voluntario 12.

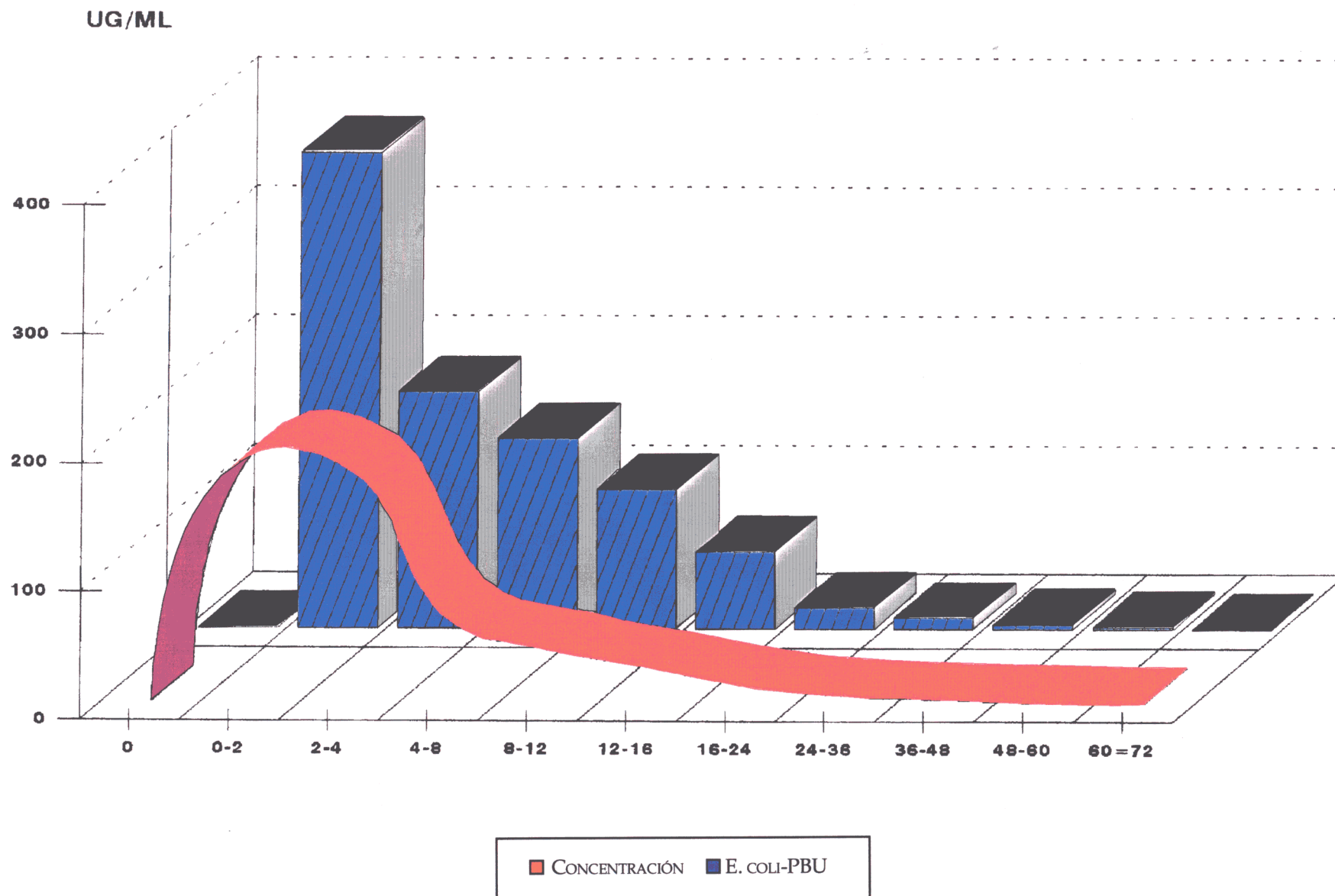


Gráfico n.º 67. Curva de PBU medios de norfloxacin frente a *E. coli* ATCC 25922.

VI. Discusión

1. FACTORES PATOGENICOS DE *E. coli*: HEMOLISINAS

Las hemolisinas son un grupo de polipéptidos citotóxicos, excretados extracelularmente, que lisan los hematíes. Son tóxicas para un amplio rango de células incluyendo PMN, monocitos y fibroblastos *in vitro*²⁶¹.

A la vista de los resultados obtenidos, se pone de manifiesto cómo muchas cepas son capaces de expresar a la vez factores de virulencia y resistencia a antimicrobianos. Esta asociación fenotípica ya ha sido observada por otros autores como Fernández y cols.²⁶², que encuentran una relación estadísticamente significativa entre la resistencia a ampicilina y la expresión de fimbrias P, así como la producción de aerobactina. En algunos estudios²⁶³ además, la expresión de hemolisina y fimbria P de forma conjunta, la cual refleja la presencia en el genoma de la denominación de «configuración genómica uropatógena»²⁶⁴, se mostró relacionada con la resistencia a ampicilina: el 65,21% de estas cepas eran resistentes a dicho antibiótico, de manera significativa.

La asociación fenotípica y genotípica entre factores de virulencia y resistencia a antimicrobianos no es algo nuevo. De los múltiples factores de virulencia reconocidos en *E. coli*, varios de ellos pueden ir codificados por plásmidos: adhesinas, resistencia al poder bactericida del suero, hemolisinas, aerobactina, entre otros. De ellos, los dos últimos suelen estar codificados por plásmidos que albergan también genes de resistencia a antimicrobianos²⁶⁵. Este hecho, unido a que *E. coli* se comporta como «buen donador y receptor de plásmidos R»²⁶⁶, hace comprender el grave problema epidemiológico que se plantea, ya que podemos encontrar cepas que expresen factores de virulencia con papel bien determinado en la patogenia de las infecciones del tracto urinario^{267, 268}, presentando además problemas para su erradicación y que transmiten ambas características con gran facilidad²⁶⁹.

En el tratamiento de las infecciones del tracto urinario han sido usados múltiples antimicrobianos en diferentes regímenes²⁷⁰; de todos ellos las quinolonas son las de mayor prescripción en los últimos años al cubrir el espectro más frecuentemente implicado en estos procesos, sus buenas características farmacocinéticas y los pocos efectos secundarios que originan²⁷¹.

Aunque parece que la transmisión de resistencias de quinolonas no está ligada a plásmidos²⁶⁹, el amplio uso de estos fármacos hace aumentar de manera significativa el número de resistencias^{272, 273}. Esta hipótesis acerca del efecto que tendría sobre el desarrollo de resistencias el uso indiscriminado, generalmente en la comunidad, de esta familia de antimicrobianos se confirmaría por el elevado número de cepas resistentes que aislamos en controles fecales, alcanzando para algunos autores el 16% para ciprofloxacina y norfloxacina y 12% para pefloxacina²⁷⁴.

Además, se ha comprobado que las quinolonas son capaces de inducir "resistencias cruzadas" a otras quinolonas y resistencias a antimicrobianos de otros grupos de antimicrobianos.

2. CONDICIONES DE CULTIVO

Nuestros resultados vienen a coincidir con otros autores²⁷⁵. En las muestras que presentan clínica urinaria y crecimiento significativo de *E. coli*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Enterobacter* sp., *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus coagulasa-negativo* fue apreciable dicho crecimiento en todos los medios y ambientes empleados, en medio de Cled y agar sangre, a temperatura ambiente y en medio de CO₂. Con incubación de 24 y 48 horas.

En dos muestras, donde se aislaron *Corynebacterium urealyticum* y *Candida albicans*, resultaron útiles las nuevas condiciones, siendo posible gracias a ello un diagnóstico etiológico correcto. Ambas presentaron un crecimiento tardío y fue observable tras 48 horas de incubación.

Algunos autores²⁷⁶ aportan casos de ITUs asociados a difteroides, concretamente *Corynebacterium urealyticum*, aunque indican cómo no justifica, por su baja incidencia, el uso de medios de cultivo selectivos sistemáticamente. Aunque es un patógeno, a considerar ante la presencia de clínica asociada a urocultivos estándares estériles y orina con pH alcalino.

Otros microorganismos, como *Streptococcus*, *Gardnerella vaginalis*, *Haemophilus influenzae* y *Lactobacillus*, han sido referidos por otros autores^{277, 278} como aislados del tracto

urinario. Esto requiere incubaciones más alargadas (48 horas), atmósfera de CO₂ y en ocasiones el uso de medios selectivos. Muchos de estos pacientes fueron sometidos a tratamientos antimicrobianos de larga duración y fueron en ocasiones portadores de sonda vesical, pudiendo tratarse de aislados de microbiota uretral seleccionada o colonización por arrastre de la microbiota uretral o prepucial²⁷⁷.

La utilización de una placa de agar sangre, la incubación en CO₂ o el mantenimiento del cultivo 48 horas únicamente se benefició en dos muestras (inferior al 1%) del total de las estudiadas, no coincidiendo con otros autores como Soriano²⁷⁹, que encontraron un índice mayor.

Estas modificaciones del protocolo de estudio, solas o en conjunto, originan un incremento significativo de inconvenientes tanto a nivel económico, aumentando los gastos en material utilizado y en personal necesario, como los asociados al espacio adicional que es necesario tener en el laboratorio de rutina para procesar un número tan importante de muestras diarias, como corresponde a los urocultivos, según las nuevas condiciones.

Ante la posibilidad de que en ciertos procesos estos microorganismos presentaran algún protagonismo, es necesario permanecer expectante: revisar los cultivos de rutina con precaución, buscando escasos crecimientos y colonias pequeñas que nos puedan orientar hacia la reincubación, aplicar medios selectivos, etc.

De todos ellos quizás sea el *Corynebacterium urealyticum* el de mayor interés²⁷⁹; cultivos negativos repetidos con clínica compatible de ITU y presencia de orinas alcalinas nos harán sospechar su presencia, obligando a la reincubación durante 48 horas.

3. ÍNDICE DE POSITIVIDAD

El índice de positividad de los urocultivos y los microorganismos encontrados es similar a los hallados en otros estudios. De las 1.880 muestras estudiadas, únicamente en 398 (21,17%) fue de utilidad el cultivo, variando los resultados según diferentes autores. Estos resultados oscilan entre 14%²⁸⁰ a 33%²⁸¹, pasando por otros intermedios del 19%²⁸² o del 25%²⁸³. Todo esto da lugar a elevación de los costes diagnósticos de la ITU, pudiendo ser una posibilidad para reducir estos costes la realización del urocultivo ante sedimento urinario patológico o tinción de Gram con presencia de bacterias de manera significativa, como se verá en el apartado correspondiente.

4. ETIOLOGÍA

Se comparó la etiología de tres poblaciones: una correspondiente a pacientes con más de 10^4 UFC/ml en general; otra con el mismo índice de recuento y alteración en el sedimento urinario y síntomas clínicos; por último, otra con menos de 10^5 UFC/ml con sedimento urinario patológico y sintomatología clínica, observando cómo los tres microorganismos más frecuentes (*E. coli*, *Proteus mirabilis* y *E. faecalis*) se repetían, aunque en proporción diferente, oscilando entre el 75,4% en el primer caso, 82,45% en el segundo y 81,5% en el último. Los resultados de la población estudiada no se diferencian de otros autores con relación al agente aislado con más frecuencia, oscilando entre el 72%²⁸¹ y 85%²⁹³ a este nivel, aunque sí en la incidencia de otros microorganismos como *Staphylococcus saprophyticus* en nuestro estudio, únicamente aislado en una muestra (0,44%). Para algunos autores supone entre el 10 y 15%^{285, 286}. En otros, entre el 5-10%²⁸⁷.

5. SÍNTOMAS CLÍNICOS

Con relación a los casos correspondientes a aislamientos de *E. coli*, en general se ha podido apreciar cómo el síntoma clínico más frecuente es disuria, correspondiendo al 40,88%, seguido por disuria y polaquiuria, con 27,11%, y dolor renal y fiebre con 14,67%. Estos resultados coincidieron con otros autores²⁸⁵, pero no en cambio con la distribución de síntomas clínicos presentes en pacientes en los que se les aisló como agente causal *E. coli* productor de hemolisinas.

En éstos la sintomatología más frecuente fue de mayor importancia, correspondiendo a dolor renal con fiebre, compatible con pielonefritis, en 44,6% de los casos, y presencia de hematuria y disuria en 16,1% de los casos. Polaquiuria se presenta en 8,9% y disuria en 7,1% de los casos.

Estos datos, pendientes de confirmar con más cepas de *E. coli* productor de hemolisinas, irían encaminados a demostrar la mayor patogenicidad de estas cepas; ya no sólo asociado al mayor incremento de resistencias, sino también a la mayor gravedad de los síntomas presentados.

Algunos autores como Keane²⁸⁸ comunicaron cómo *E. coli* puede alterar a células tubulares renales. La mayoría de los *E. coli* pielonefríticos contienen los genes *hly* and *pap* y los expresan asociados a determinantes de virulencia en contraste con aislados fecales²⁸⁹. Las hemolisinas contribuyen a extender el *E. coli* por el parénquima renal. Mobley *et al.*²⁹⁰ demostraron que las cepas de *E. coli* pielonefríticas son citotóxicas *in vitro*, y su actividad se relaciona con la elaboración de hemolisinas.

La producción de hemolisinas es más frecuente encontrarla en pielonefritis y cistitis congestiva^{291, 292}.

6. RESISTENCIAS DE *E. COLI* EXTRAHOSPITALARIOS AISLADOS EN EL ESTUDIO EN RELACIÓN A OTROS TRABAJOS

El incremento en las resistencias de *E. coli* a ácido pipemídico y otras quinolonas en los últimos años viene a ser una consecuencia del alto consumo de fluorquinolonas, mientras que el de las viejas quinolonas decrece anualmente²⁹³. Ofloxacino, por ejemplo, salió al mercado en 1991, y nuevas quinolonas se incorporaron al mercado después de ésta. En los últimos diez años el nivel de resistencias a norfloxacino y a ciprofloxacino se dobla anualmente²⁹⁴, pasando el nivel de resistencias a norfloxacino y ciprofloxacino de 5,4% y 4% respectivamente, en 1991, al 8,4% y 7,1%, en 1992.

Referente a la selección de resistencias por el uso de ácido nalidíxico y otras viejas quinolonas haciendo disminuir la eficacia de las nuevas quinolonas, también es posible que la eficacia de las viejas quinolonas haya disminuido por el uso de fluorquinolonas. Está claro que el incremento de resistencias al ácido pipemídico coincide con el incremento del consumo de fluorquinolonas. Tal vez el uso de las viejas quinolonas años anteriores provocara la selección de mutantes, lo que provocaría una rápida emergencia de alto nivel de resistencias tras la introducción de fluorquinolonas.

Lo que es claro es que si no se estudia la manera de reducir el uso de fluorquinolonas, dentro de poco tiempo nos veremos con la incapacidad de usar uno de los mejores grupos de antimicrobianos actuales.

Otros antimicrobianos, como fosfomicina y cefuroxima-axetilo, alcanzan bajos niveles de resistencia, siendo su uso de gran utilidad en infecciones urinarias no complicadas; presentan escasos efectos secundarios y son utilizables, principalmente la segunda, en niños. Resultan una alternativa para reducir el uso de quinolonas.

En nuestro estudio, aunque se observa un incremento del nivel de resistencias en comparación al estudio realizado en 1993 para la realización de la Tesina de Licenciatura, los niveles no son tan elevados como los que citan otros autores; la causa, aunque no está aclarada, puede explicarse al tratarse de pacientes extrahospitalarios puros y no pacientes que proceden de controles tras ingreso hospitalario. La mayoría corresponden al barrio donde se sitúa la clínica (Barrio de Salamanca, de Madrid), donde todavía la media de edad del médico es alta, con utilización de antimicrobianos clásicos y escaso uso de fluorquinolonas.

7. EFECTO POSTANTIBIÓTICO (EPA)

Actualmente existen disponibles en el mercado una cantidad de antimicrobianos suficientes para asegurarnos una defensa segura para la gran mayoría de los microorganismos responsables de la patología infecciosa humana.

Nuevas situaciones, como la aparición de resistencias antimicrobianas y el incremento de pacientes con alteración a diferentes niveles del sistema inmune, nos obligan al estudio de las relaciones antimicrobiano-microorganismo-huésped buscando otros parámetros que amplíen el criterio de selección de un antimicrobiano.

Uno de estos factores a considerar sería el efecto *postantibiótico*, fenómeno por el cual se produce un retraso en el crecimiento bacteriano después de la exposición al antimicrobiano. Su aplicación servirá para racionalizar el establecimiento de pautas de dosificación que, frecuentemente, se diseñan de forma empírica. Por ejemplo, se prescribe gentamicina cada 6-8 horas y amikacina cada 12 horas, aunque ambas drogas tienen una vida

media de 1-2 horas; igualmente se prescriben muchas penicilinas de tres a seis veces al día, mientras que las cefalosporinas, con similares vidas medias, se dan dos veces al día y el metronidazol tres veces al día, siendo su vida media de 6 horas.

El efecto *postantibiótico* es uno de los efectos que las moléculas antimicrobianas son capaces de mostrar sobre las bacterias sensibles, que se detectan después de eliminar dichas moléculas. Muchos efectos –como período de recuperación de la actividad enzimática y de la actividad proteínica no enzimática, cambios duraderos en la morfología celular, alteraciones en el metabolismo, en el crecimiento, en el tiempo de generación, en la estructura superficial y modificaciones en la sensibilidad de la bacteria a la fagocitosis, entre otros– están asociados íntimamente al EPA y se consideran como responsables en la presentación del fenómeno. Otros, sin embargo, no están directamente asociados con el retraso en el crecimiento, pero sí están relacionados con la técnica empleada en la determinación del EPA; por tanto, deben ser considerados como sucesos distintos.

Desarrollaremos la discusión de esta tesis, en lo concerniente a este apartado, considerando dos apartados más:

1. Evaluación de la técnica utilizada.
2. Mecanismos. Aplicaciones. Análisis de resultados.

7.1. EVALUACIÓN DE LA TÉCNICA UTILIZADA

Los test *in vitro*, como ya sabemos, son indicadores de la situación real de un proceso infeccioso, pero los resultados que obtenemos son esenciales para comprender el fenómeno a estudiar y establecer, posteriormente, modelos animales y estudios en huma-

nos. Por ello, la selección del método más apropiado nos beneficiará con la obtención de unos resultados claros, fiables y fáciles de extrapolar a la situación *in vitro*.

7.1.1. Influencia de las propiedades del inóculo inicial

Las propiedades que caracterizan al inóculo con que iniciamos el ensayo van a condicionar el desarrollo del mismo y, aunque es un factor crítico²⁹⁵, no se ha evaluado suficientemente su papel.

Nosotros iniciamos el protocolo experimental a partir de un cultivo *overnight* que diluimos en medio fresco para comenzar el ensayo. En la mayoría de los trabajos una muestra del inóculo *overnight* se diluye en medio fresco y se deja crecer 1-2 horas hasta que se alcanza la fase exponencial, y, entonces, se inicia el ensayo. Graig y Gudmundsson²⁹⁶, trabajando con penicilina y *S. aureus*, o Gerber²⁹⁷ con gentamicina y *P. aeruginosa*, no han encontrado diferencias significativas entre el EPA detectado con las bacterias en fase logarítmica y el calculado con las bacterias en fase estacionaria.

Otros autores^{298,299}, al contrario, sí han podido detectar esas diferencias y encuentran EPA más prolongado en fase exponencial que en fase estacionaria.

En este trabajo se ha escogido la fase estacionaria de crecimiento como ideal para la determinación del EPA porque refleja más fielmente la situación *in vitro*.

7.1.2. Influencia del medio de cultivo

El caldo Müller-Hinton es el más ampliamente utilizado, aunque se han descrito tiempos de EPA diferentes según el caldo utilizado. Esto se debe a las diferencias en la

concentración de timidina en los caldos: la timidina inhibe la actividad del antibiótico. Otros medios no tienen tanto efecto en la duración del EPA, como sucede con el caldo nutriente o la infusión cerebro-corazón³⁰⁰.

El medio en sí mismo es también un factor esencial en la presentación del EPA: las bacterias tratadas pueden convertirse en formas frágiles que son más fácilmente lisadas si están en un medio hipertónico o hipotónico, de forma que el estado físico de los microorganismos puede condicionarse por el medio nutriente y así alterar el EPA. Las bacterias lábiles, por ejemplo los esferoplastos, que deben construir su pared antes de dividirse, mueren debido a una presión osmótica inadecuada, mientras que las bacterias viables, que tienen su pared intacta, pueden dividirse antes, y, por tanto, su tiempo EPA se acorta.

Se escogió el caldo de Müller-Hinton porque su uso no afecta a los resultados del EPA, que pueden ser comparados con los de otros autores.

7.1.3. Influencia del pH del medio

Gran parte de los estudios relacionados con EPA se realizan a pH entre 7,2-7,4 sin considerar que, en la mayoría de los focos infecciosos, el pH es mucho más bajo. El pH ácido, en general, tiene un efecto lesivo sobre la actividad bactericida de los antimicrobianos y las nuevas fluorquinolonas^{301, 302}, aumentando los valores de las CMI, mientras que los betalactámicos se ven menos afectados.

La influencia del pH se debe probablemente a los distintos grados de ionización de los antimicrobianos y de determinadas estructuras celulares, lo que afectaría tanto a la penetración del fármaco como a su fijación sobre su *diana*. En este trabajo se ha determinado el EPA a pH 7,2-7,4 por la posibilidad de comparar los resultados con los de otros autores.

7.1.4. Influencia del tiempo de exposición

El tiempo de exposición debería quedar estandarizado por ser uno de los factores con mayor influencia.

Se sabe que si el tiempo de exposición aumenta, se prolonga el tiempo EPA³⁰³.

En este trabajo se determinó un tratamiento de una hora de exposición porque un período más largo se traduciría en una disminución significativa del inóculo, con lo que el EPA podía sobreestimarse.

7.1.5. Influencia del método de eliminación del antimicrobiano

El método para eliminar el antimicrobiano del medio, una vez que se ha terminado el período de exposición, puede tener una gran incidencia sobre los resultados. La técnica más empleada para eliminar el antimicrobiano es el lavado de los microorganismos con un medio libre de antibiótico y posterior centrifugación a 1.200 r.p.m.; el sobrenadante es desechado bien por succión o por decantación. Después del tratamiento antimicrobiano las bacterias tienen una mayor fragilidad osmótica, por lo que el método de eliminación del antimicrobiano puede influir en el EPA.

Algunos autores prefieren la inactivación química. En ausencia de sustancias inactivadoras adecuadas, la técnica del filtro de membrana sería también una buena opción³⁰⁴ porque elimina todos los antimicrobianos con menor efecto sobre la presión osmótica.

En este trabajo se optó por el método de dilución. Por definición, cuando se determina el EPA no debería quedar ningún residuo del antibiótico tras su eliminación.

Sin embargo, dependiendo de la técnica, cantidades subinhibitorias, pero medibles con técnicas de marcaje³⁰⁵, pueden persistir. Esto no es más que un reflejo de lo que sucede *in vitro*, ya que sería extraordinario si, durante el curso de un tratamiento, las concentraciones del antibiótico cayeran por debajo de niveles detectables en el tiempo entre dosis. Odenholt³⁰⁶ ha publicado que cuando se incuban *S. pyogenes* o *S. pneumoniae* en fase EPA de vancomicina y roxitromicina a concentraciones subinhibitorias, las PBP están inactivadas y, por tanto, no pueden ejercer su acción.

7.1.6. Influencia del método de recuento de UFC en la determinación de EPA

La técnica más utilizada para medir el EPA es el recuento de UFC/ml. Otras técnicas de cuantificar el EPA son métodos ópticos o electrónicos. Pocos investigadores han comparado entre sí las diferentes técnicas. Bergen³⁰⁷ observó una buena correlación entre la medida de la densidad óptica y el recuento de viables para las combinaciones *cloranfenicol-E. coli*, *oxitetraciclina-E. coli*. Rescot³⁰⁸ mide el tiempo que se tarda en reducir un 5% el valor de la transmitancia para *E. coli* expuesta a ampicilina, ciprofloxacino y tobramicina y no encontró diferencias significativas en el valor del EPA medido así en comparación con la técnica de UFC.

Sin embargo, si se mide el EPA inducido por betalactámicos o aminoglucósidos sobre gramnegativos con técnicas ópticas se obtienen valores de EPA mucho más grandes que con el recuento de UFC³⁰⁵.

Dado que el número inferior a 10^6 UFC/ml no es detectado por las técnicas ópticas o la medida de la impedancia, el crecimiento logarítmico estudiado por estos métodos

muestra un aparente letargo hasta que el número es tres veces mayor que ese umbral, por lo que se debe ser cuidadoso en la interpretación de esos resultados.

El contenido intracelular de ATP medido por técnicas de bioluminiscencia es otro de los procedimientos empleados para cuantificar el EPA³⁰⁵. No se han encontrado diferencias entre esta técnica y el recuento de UFC para *Eterococcus faecalis* expuesto a penicilina y gentamicina³⁰⁵ y, al contrario, sí se han encontrado tales diferencias con *P. aeruginosa* expuesto a imipenem y *E. coli* expuesta a ampicilina. En estos casos, con esta técnica se obtienen EPA, más cortos. Estas diferencias pueden deberse a que las bacterias muertas no lisadas también contienen ATP intracelular, lo que resultaría en una falsa elevación del ATP hasta que el número de bacterias viables excediera enormemente al número de bacterias muertas no lisadas.

La fiabilidad del EPA está determinada por la técnica utilizada para cuantificarlo. La técnica de recuento del número de UFC tiene dos inconvenientes que pueden inducir a error: las diluciones seriadas y el hecho de asumir que una colonia representa una sola bacteria. Este tipo de errores puede corregirse, en parte, cuando se realizan múltiples réplicas del ensayo para no subestimar o sobrevalorar el tiempo EPA.

A pesar de estos inconvenientes, el recuento de UFC es valioso por su economía y su uso extendido, lo que permite comparar resultados. Además, como ya hemos mencionado anteriormente, no en todos los casos hay diferencias significativas con los resultados obtenidos en otras técnicas.

Realmente lo que interesa es conocer si existe un cambio en la cinética de crecimiento de las bacterias tratadas respecto del control y si ese cambio está dentro de un rango significativo para modificar la dosificación³⁰⁹.

7.2. ANÁLISIS DE RESULTADOS

7.2.1. Mecanismos del EPA

Los mecanismos que nos expliquen el EPA no son conocidos de manera definitiva, pero se han propuesto varias hipótesis para explicar el retraso en el crecimiento; podría deberse a la recuperación de daños no letales reversibles, tiempo de persistencia del antimicrobiano en el receptor o en el espacio periplásmico o a la necesidad de sintetizar nuevas enzimas, entre otras.

Se considera que es un fenómeno que se desarrolla fundamentalmente dependiendo de la combinación antimicrobiana-microorganismo y, en muchos casos, es multifactorial. Se asume que el EPA es el resultado de la inhibición del crecimiento bacteriano como consecuencia de una prolongación del tiempo de latencia. Sin embargo, podría deberse a un aumento en el tiempo de generación o, incluso, una combinación de ambos. El segmento de la fase de crecimiento que está afectada puede calcularse tomando muestras a intervalos muy cortos. Esto ha revelado que en la mayoría de los casos sucede realmente una prolongación de la fase de latencia, excepto para ciprofloxacino³¹⁰, que induce una prolongación en el tiempo de generación.

Otra posibilidad sería que el EPA representara el período durante el cual la bacteria resintetiza nuevas PBP o el efecto del antimicrobiano, que permanece en el espacio periplásmico, el cual continúa inhibiendo la actividad de las enzimas recién sintetizadas³¹¹. Otra alternativa es que el EPA sea el período durante el cual la célula regenera la actividad enzimática después de que el antimicrobiano se haya liberado desde las dia-

nas; el rango de síntesis de las nuevas enzimas variará según el tipo de bacterias y dentro de cada bacteria, lo que explicaría las diferencias entre unos organismos y otros en sus tiempos de EPA. El motivo por el que los betalactámicos no inducen EPA en los gram-negativos sería la consecuencia de la rápida liberación de las PBP de las células supervivientes.

Otra teoría sería que el EPA representa la restauración del balance final que existe entre las enzimas autolíticas y las enzimas recién sintetizadas que son responsables de la síntesis del péptidoglicano³¹². El EPA inducido por los carbapenemes podría ser el resultado de su capacidad para penetrar en la bacteria y de su alta afinidad por las PBP³¹³. Los carbapenemes se fijan preferentemente a las PBP₂ a diferencia de lo sucedido en la mayoría de los betalactámicos, por lo que algunos autores^{314,315} han sugerido la posibilidad de que el simple hecho de la inhibición de la PBP₂ sea una causa primaria del efecto post-antibiótico.

Los aminoglucósidos se fijan a los ribosomas y, por tanto, el tiempo EPA sería el necesario para resistetizar estructuras ribosomales o para que las drogas se disocien y difundan fuera de la célula²⁹⁸. Aunque los macrólidos tienen un modo de acción similar a los aminoglucósidos, el EPA puede producirse por mecanismos diferentes. Gerber y Craig²⁹⁹ obtuvieron que *K. pneumoniae* expuesto a eritromicina a baja temperatura durante 24 horas no recupera el EPA y, en contra de lo esperado, el antimicrobiano no se liberó del receptor durante ese tiempo: el EPA supondría entonces el tiempo necesario para resistetizar proteínas esenciales antes que para la disociación del ribosoma.

Se ha sugerido que el EPA de las quinolonas está condicionado por el tiempo en que éstas tardan en disociarse de sus receptores y difundir fuera de la bacteria³¹⁶. Sin

embargo, aunque para todas las quinolonas la ADN-girasa parece ser la diana principal, si el valor del EPA varía de unas quinolonas a otras, debemos buscar otras explicaciones adicionales para poder entender dichas divergencias.

En primer lugar, debemos considerar que el mecanismo de actuación de las quinolonas es diferente según el tipo de molécula y el microorganismo. Son, pues, los primeros factores a considerar. A continuación, se debe atender a la concentración del fármaco, porque ésta va a condicionar tanto el proceso de entrada y acumulación, como el tipo de respuesta encontrada (respuesta bifásica).

Frente a *E. coli*, el ciprofloxacino a CMI fue el antimicrobiano que indujo un valor más alto de EPA: 2 h, 24 min. A pesar de no estar bien establecidos los distintos mecanismos de actuación, parece que nuestros resultados del EPA concuerdan con lo encontrado respecto a la actividad bactericida y su relación con los mecanismos propuestos. Tan sólo hay discrepancias en el caso de perfloxacino, que resultó ser muy lento en mostrar su acción bactericida, pero fue igual de eficaz que el ofloxacino en la presentación del EPA.

7.2.2. Resultados del trabajo

Con relación a las CMI y CMB correspondientes a los antimicrobianos ensayados frente a las tres cepas enfrentadas, se apreció una mayor actividad de las quinolonas con CMI inferiores al resto de los antimicrobianos ensayados, oscilando entre 0,015 y 0,120 mg/l. A la ciprofloxacina le correspondió la menor concentración mínima inhibitoria, con 0,015 mg/l, coincidiendo con el valor de CMB como en el resto de las moléculas

ensayadas, menos con el correspondiente a fosfomicina, aunque en este caso sólo existió una dilución de 4 mg/l a 8 mg/l.

En el resto de los antimicrobianos estudiados, amoxicilina-ácido clavulánico, cefuroxima y cotrimoxazol, coincidió igual valor para la CMI y la CMB, lo que demuestra su actividad bactericida.

En las tres cepas ensayadas, *E. coli* ATCC 25922, *E. coli* aislado clínico, productor de hemolisinas, y *E. coli* NCTC 11560, productor de betalactamasa TEM-1, se observó el elevado incremento de la CMI para *E. coli* productor de betalactamasa frente a amoxicilina, alcanzando niveles de 4.096 mg/l, y el también elevado incremento de CMI para *E. coli* portador de hemolisinas con CMI de 512 mg/l, siendo, por tanto, resistente a este preparado.

Con relación a las EPAs obtenidas, no existen diferencias significativas entre las tres cepas ensayadas. En el ensayo realizado con concentraciones de antimicrobianos que corresponden a CMI y 10 CMI, no se aprecia EPA con cotrimoxazol y fosfomicina a esas concentraciones. Con relación al betalactámico, tampoco se obtuvo EPA a las concentraciones ensayadas, coincidiendo con otros autores^{317,318}, que consideran que estas moléculas dan lugar a moderado EPA sobre cocos grampositivos y nulos o muy bajos sobre bacilos gramnegativos.

Amoxicilina-ácido clavulánico, a concentraciones próximas a la CMI o a CMI no muy elevadas, coincide con presentar EPA no significativo o ausencia de éste³¹⁹. Sin embargo, ensayado a concentraciones elevadas con más de 31 CMI para clavulánico y 8,9 CMI para amoxicilina, se obtiene EPA significativo y positivo 90-105 minutos^{318, 320}. Este hecho puede tener importancia clínica en infecciones por cepas sensibles, al ser fácil alcanzar concentraciones séricas superiores a la CMI, principalmente en vías respiratoria y urinaria.

En cuanto al estudio realizado frente a cepas bacterianas gramnegativas, las quinolonas muestran EPA, generalmente largos o intermedios^{321, 322}.

En nuestro estudio, frente a las tres cepas de *E. coli* destacamos ciprofloxacino con EPA significativo alrededor de 2,4 horas para CMI y hasta 4,3 horas para 10 CMI, coincidiendo con otros autores^{322, 323}.

Con ofloxacino se obtendrían resultados muy buenos también, aunque con EPA más acortado, correspondiendo 1,5 horas para CMI y 3,1 horas para 10 CMI. Autores como Prieto y cols.^{324, 325} coinciden en ello.

Norfloxacino es la quinolona con menor EPA de las ensayadas, correspondiendo a una hora para 10 CMI y algo más de 30 minutos para CMI, como también coinciden Mínguez y cols³²²; aunque, como el resto de las quinolonas, posee una gran actividad y se elimina a gran concentración por las vías urinarias, como podemos confirmar en la determinación de PBU y niveles urinarios. Son todavía de gran utilidad en infecciones urinarias de vías bajas, no alcanzando suficiente concentración a nivel parenquimatoso.

Con concentraciones próximas a la CMI de ciprofloxacino sobre *E. coli* se produce EPA próxima a 2,5 horas, que va aumentando, según demuestran otros autores^{323, 326}, con la concentración, alcanzando 4,9 horas a 600 CMI.

Ofloxacino también posee un EPA próximo al de ciprofloxacino, aunque algo menor^{324, 327}, con gran actividad frente a gramnegativos.

7.2.3. Aplicaciones clínicas del EPA

Es difícil predecir el futuro de cualquier agente terapéutico, dado que existe un gran número de factores que pueden influir sobre el papel definitivo que éstos habrán de jugar en el futuro de la medicina clínica.

Actualmente se considera que las expectativas ante el futuro de estos agentes giran alrededor de dos ejes principales: el uso de agentes que muestran vidas medias más largas y el uso de las quinolonas por vía intravenosa.

Existen diferencias fundamentales en la farmacología de las quinolonas. Por ejemplo, ofloxacino se elimina prácticamente todo por vía renal, mientras que ciprofloxacino pasa por procesos de eliminación tanto renal como por metabolismo, y pefloxacino, por su parte, se ve eliminado sobre todo por procesos de metabolización.

Las concentraciones séricas y tisulares indican que en las dosis utilizadas normalmente hoy día de ciprofloxacino, ofloxacino y pefloxacino estas drogas pueden inhibir la mayoría de las *enterobacteriaceae*³²⁸. Todas las quinolonas alcanzan en orina concentraciones superiores a la CMI de los patógenos urinarios, inclusive *P. aeruginosa*.

Podríamos preguntarnos si las quinolonas con vida media de 7-10 horas llegarán a ser más valiosas que las de vida media de 4 horas.

En la práctica clínica habitual existen pocas situaciones en las que la administración dos veces al día de un antimicrobiano sea un importante problema. Sin embargo, si con la dosificación diaria se consiguen niveles por encima de la CMI y a esos niveles es posible detectar un EPA *in vitro*, se podría considerar que este fenómeno está sucediendo también *in vitro*, por lo que no tendría sentido una pauta terapéutica de más dosis por día.

Más fuerza tiene esta hipótesis si consideramos que las fluorquinolonas incrementan la sensibilidad de las bacterias a la acción bactericida de las células fagocíticas del huésped.

Por lo expuesto resulta que una quinolona con una vida media de 4 horas, como sería la ciprofloxacino, puede ser utilizada de manera efectiva para tratar la mayoría de

las infecciones que aquejan a pacientes bajo tratamiento ambulatorio; no siendo necesaria la administración dos veces al día, en contra de aquellos autores que se decantan por la doble dosis diaria basándose en la ausencia de toxicidad y en la baja incidencia de resistencia adaptativa.

Obviamente no podemos relacionar patógenos con fármacos con nivel sérico o urinario y así definir el esquema de dosificación. Se necesita mucha más información fundamentalmente para el paciente inmunocomprometido, pero sí debemos tener en cuenta que se usan dosis excesivas de antimicrobiano en el tratamiento de una infección como resultado de consideraciones éticas concernientes al fallo terapéutico, a proveer un tratamiento adecuado y a la opinión común de que si pequeñas cantidades de un agente son efectivas, una mayor cantidad lo será más. En nuestro propio provecho debemos aprender más acerca de cómo usar los antimicrobianos, fluorquinolonas en particular, de manera correcta.

Parte de esta tesis pretende aportar datos sobre el EPA en los antimicrobianos utilizados en infecciones del tracto urinario, con el objetivo de plantear la posibilidad de acortar días de tratamiento, espaciar las dosis o disminuir las concentraciones para mejorar diferentes aspectos, tanto terapéuticos (facilitar el cumplimiento del tratamiento, evitar efectos secundarios) como económicos, reduciendo costes.

8. PODER BACTERICIDA URINARIO (PBU) Y NIVELES URINARIOS CORRESPONDIENTES A NORFLOXACINO

Para el estudio de la cinética de muerte bacteriana frente a *E. coli* ATCC 25922 en orina, se emplearon concentraciones que corresponden de 40 a 1.200 veces la CMI.

Se observa cómo una de las características de este grupo de antimicrobianos (quinolonas) es su gran capacidad bactericida en sus concentraciones óptimas (entre 30-60 veces la CMI)³²⁹, siendo capaces de reducir en un exponente el inóculo inicial en la primera hora de exposición³³⁰. De igual manera, presentan diferentes capacidades bactericidas según su concentración empleada, con una concentración máxima eficaz, que por encima de ella, pueden expresar «efecto paradójico»³²⁹, en el que el rendimiento en la reducción del inóculo no se encuentra relacionada con la concentración ensayada, lo que es lo mismo, desciende el poder bactericida.

Del mismo modo, se ha observado una reducción de actividad en presencia de orina³³¹, posiblemente relacionada con cambios de pH.

En nuestro estudio, las concentraciones ensayadas para norfloxacino se obtienen de muestras de orina, en tiempos prefijados, procedentes de voluntarios sanos, a los que se les administra una única dosis de 400 mg V.O. Para norfloxacino las concentraciones empleadas van de 5 a 151 ug/ml, que relacionado con su CMI frente a *E. coli* (CMI) representa un rango de 40-1.200 veces la CMI, con lo que obtenemos que más del 75% de muestras ensayadas sobrepasan este valor, implicando una alta probabilidad de expresar «efecto paradójico», como indican varios autores³²⁹.

Se puede observar, con norfloxacino, cómo en la mayoría de las concentraciones ensayadas existe una reducción de un exponente en la primera hora de exposición. Del mismo modo, se aprecia actividad bactericida (reducción de tres exponentes) a las cuatro horas de exposición, hasta una concentración de 25-30 ug/ml, que implica 200-240 veces su CMI. Apartir de estas concentraciones, los valores de reducción del inóculo se estabilizan e incluso se reducen, poniendo de manifiesto claramente «efecto paradójico».

El incremento de la concentración óptima de norfloxacin se puede atribuir a lo reseñado por autores como Reeves³³¹, en que la orina actuaría como inhibidor de la actividad de estos fármacos. La concentración óptima en nuestro caso sería 160 veces la CMI, concentración que encontramos en los voluntarios estudiados sobre las 8-12 horas tras la administración del fármaco.

En este estudio podemos demostrar con otros autores³³² cómo por encima de la concentración óptima el poder bactericida desciende, lo que aplicado al estudio de niveles y PBU, la mayor eficacia se relacionaría con el mantenimiento de valores de concentración sobre las 40 veces la CMI, y en fármacos en que la concentración fuera elevada habría que esperar al aclaramiento del fármaco en orina para poder obtener la máxima eficacia.

Con los parámetros estudiados, que nos aportan información sobre diferentes características de los distintos antimicrobianos de utilidad en infecciones del tracto urinario, hemos pretendido valorar la utilidad de la integración de conceptos de farmacocinética y farmacodinámica para la elección de una pauta de tratamiento. Cuando elegimos betalactámicos, puede lograrse la eficacia óptima mediante el conocimiento de concentraciones en el tiempo y conseguir que siempre superen a la CMI. Los valores de antibióticos en suero pueden ser equivalentes a las CMI o CMB, pero no deben ser inferiores. Una forma de valorar el tratamiento sería mantener en el valle sérico igual o mayor de 1/2. Con las quinolonas fluoradas existe una relación proporcional entre la actividad bactericida y la concentración en el pico sérico. La demostración de un EPA prolongado permite encontrar el tratamiento óptimo administrando dosis elevadas a intervalos espaciados.

9. TÉCNICAS DIAGNÓSTICAS

Con relación a las técnicas de diagnóstico rápido, unas nos aportan el resultado de manera inmediata en la propia consulta, como sería la observación de la turbidez de la orina, o determinación de diferentes parámetros mediante tiras reactivas en varios minutos. En cambio, otras, aunque también rápidas, son de mayor duración, más que por el proceso en sí mismo, por la necesidad de apoyo del laboratorio tanto de análisis clínicos como de microbiología, consistiendo en el estudio del sedimento urinario o la tinción de Gram.

Entre las primeras, con tira reactiva, observamos en nuestro estudio cómo parámetros como la densidad, glucosa, acetona, proteínas y pigmentos biliares no son de ninguna utilidad para el diagnóstico de infección del tracto urinario, aunque no deben rechazarse sistemáticamente, al aportar datos importantes sobre diversos procesos patológicos, con mínima molestia para el paciente; como sucede en hiperglucemias, nefropatías, hepatopatías y hemólisis, entre otras.

El aspecto turbio de la orina es el parámetro, de los ensayados, el más fácil y económico al realizarse únicamente observando la muestra. Aunque es de relativa utilidad, ya que una orina turbia no es una orina infectada; la presencia de sales, cristales y sangre entre otras sustancias puede hacer confundir el diagnóstico. Este dato, por sí mismo, presenta una buena sensibilidad con 76,23% y especificidad próxima al 60%. Resultados contrastados con otros autores^{65, 333}. Esta observación, asociada a la presencia de leucocitos en orina y nitritos, medibles con la tira reactiva, hace mejorar los resultados de especificidad, resultando del 88,48%, aunque presenta descenso de la sensibilidad a 52,4%. Si nos basamos en la combinación de los tres parámetros, tomando dos positivos de los tres

como infección, se alcanzarían resultados mucho mejores con sensibilidad próxima al 80% y especificidad del 71%. Por lo cual sería necesario asociar el aspecto al uso de la tira reactiva.

Determinar la presencia en la orina de leucocito-esterasa y nitritos son parámetros que se obtienen paralelamente con igual gasto y en el mismo tiempo. Son complementarias, lo que gana en especificidad la primera con 81,2%, coincidiendo con otros autores que obtienen resultados de especificidad entre 78% y 87%^{334,335}, aunque presentan mayor sensibilidad próxima al 80%, ganan en sensibilidad los nitritos 90,3%, que coinciden con los mismos autores. Con la combinación de ambas se obtiene una importante especificidad próxima al 86%, aunque la sensibilidad esté cerca del 56%^{334,335}. Los resultados presentados por otros autores^{336,337} es variable, oscilando entre 60 a 96% de especificidad y 60 a 100% de sensibilidad.

Las otras técnicas, como el sedimento urinario y la tinción de Gram, según ya indicamos, son más complejas al necesitar un laboratorio con aparatos como centrífugas, microscopios y diversos colorantes, junto a personal con mayor experiencia.

Al estudiar el sedimento urinario se observa la presencia de células, principalmente leucocitos y hematíes, cristales y bacterias; aunque leucocitos y bacterias, observados a 40 aumentos, son las relacionadas con las infecciones del tracto urinario. En ocasiones es tan intensa la cantidad de leucocitos en la muestra estudiada, que no permite observar la presencia de bacterias, principalmente si están en baja proporción. En estos casos es de gran utilidad tener el hábito de diluir la muestra con suero fisiológico, buscando la presencia de bacterias.

En el estudio se analizan los parámetros de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo en relación a la presencia de más de 10 leucocitos/c, y la

presencia de 5 o más bacterias/c tanto por separado, como combinando ambas pruebas. Se obtiene así una sensibilidad del 97% para la presencia de bacterias con una baja especificidad que no alcanza el 40%, lo que indicaría que la presencia de bacterias por sí mismas no sería indicativo de infección del tracto urinario, sin presencia de componente inflamatorio y ausencia de síntomas clínicos.

Más de 10 leucocitos por campo a 40 aumentos alcanzan en nuestro estudio una sensibilidad y especificidad solapables con la obtenida cuando se observa la combinación de más de 10 leucocitos/c y más de 5 bacterias/c, presentando sensibilidad del 64,47% y especificidad mayor del 85%. Otros autores^{338,339} presentan resultados que oscilan para el estudio de más de 10 PMN/C y bacteriuria, entre 70-75% de sensibilidad y 76-82% de especificidad.

La asociación leucocito-esterasa y bacteriuria analizada en conjunto o en combinación no aportan ninguna claridad diagnóstica significativa con relación a la observación correcta del sedimento urinario.

Respecto a la tinción de Gram realizada en una gota de orina sin centrifugar, comparamos los resultados entre la presencia de 1 bacteria/c con 100 aumentos y 5 o más bacterias/c con los mismos aumentos. Encontramos mayor precisión en el segundo estudio, ya que la observación de 1 bacteria/c presenta una óptima sensibilidad con 99%, y la especificidad es inferior al 46%. En cambio, la observación de 5 o más bacilos/campo de 100 aumentos alcanza valores óptimos tanto en especificidad como en sensibilidad, con valores de 89,7% y 96% respectivamente, siendo una prueba idónea para el diagnóstico de infecciones urinarias. Estos resultados coinciden con otros autores^{340, 341, 342}. Aunque es de realización rápida, necesita un laboratorio de apoyo con personal experimentado. Cuando el personal no es tan experimentado, como suele suceder en situaciones de

urgencia por horarios o turnos especiales, el sedimento urinario nos informa de la presencia de leucocitos como componente inflamatorio, que, asociado a bacterias con sintomatología acompañante, orientan de manera bastante clara hacia el diagnóstico.

En el momento del diagnóstico, la asociación de leucocitos-esterasa y nitritos, el sedimento urinario y la tinción de Gram asociado a la presencia de síntomas clínicos serían las mejores posibilidades diagnósticas de ITU de forma rápida, en orden creciente con relación a la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo, siendo necesario evaluar las ventajas e inconvenientes de cada uno. El primero es posible realizarlo en consulta, el segundo necesita laboratorio con material y personal experimentado adecuado, y al último método se añade la necesidad suplementaria de colorantes para la tinción de Gram entrenado.

10. FARMACOECONOMÍA

10.1. COSTE DEL DIAGNÓSTICO ITU EXTRAHOSPITALARIO

Después de obtener cómo la tinción de Gram y la observación del sedimento urinario pueden ser las pruebas diagnósticas de mejor rendimiento a la hora del diagnóstico de infección del tracto urinario, a nivel extrahospitalario (la primera, por su rapidez y excelentes resultados con relación a sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo; la segunda, por mayor sencillez de realización, aunque con menor especificidad y sensibilidad), observaremos el precio del diagnóstico tomando como referencia tres sociedades médicas, atendidas en el centro donde se realiza este estudio, siendo de

importante difusión nacional, como son: ASISA, CAJA SALUD y MUTUA GENERAL DEPORTIVA.

El método diagnóstico más caro con diferencia correspondería al cultivo, con un precio medio de 2.113 pesetas. Existen escasos trabajos donde se comente el coste del tratamiento de infección urinaria extrahospitalaria para poder comparar con el nuestro; en USA se calculó un precio de 25 dólares, que, dependiendo del cambio monetario, equivaldría a unas 2.500 pesetas. Sería el método de referencia, por el cual no solamente conoceremos el número de UFC por ml de orina; además, sería posible identificar el microorganismo causante del proceso infeccioso, que permitirá posteriores estudios epidemiológicos, y conocer el nivel y posterior evolución de resistencias antimicrobianas orientado a mejorar la elección y las pautas de estos fármacos en cada comunidad.

La utilización de la tinción de Gram reduce precios a la décima parte, con relación al cultivo, oscilando entre 214 y 330 pesetas, con buenos resultados. Algunos autores norteamericanos aportan como precio de este test el de 15 dólares (1.500 pesetas), siendo muy superior al nuestro, quizás por no existir sociedades médicas del tipo de las españolas, que controlan los precios de las pruebas diagnósticas, sin oposición significativa de las sociedades de analistas.

El estudio de anormales, entre los cuales se incluyen nitritos y presencia de leucocito-esterasa, con el sedimento urinario, no aporta mejor resultado que la observación del sedimento urinario, y existe diferencia en el coste, siendo de 297 pesetas de precio medio, en el primer caso, a 133 pesetas el precio medio por el sedimento urinario únicamente. Éste presenta éste un precio interesante con relación al cultivo, aunque no sea tan preciso ni aportar tantos datos, y algo más económico con relación a la tinción de Gram.

El uso de tiras reactivas supone un coste de 143 pesetas de media, próximo a los precios estadounidenses: unas 120 pesetas con menor sensibilidad y especificidad, pero con la posibilidad de poder realizarse en la propia consulta, no necesitando personal demasiado experimentado para su realización.

10.2. RELATIVO A COSTES DEL TRATAMIENTO

Al iniciar el estudio de costes con relación a tratamientos a nivel extrahospitalario es necesario considerar múltiples factores, como costes de adquisición, costes por dosis empleada, costes por duración del tratamiento, por toxicidad y derivados del fracaso terapéutico y los costes del incumplimiento de dicho tratamiento.

Coste de tratamiento basal (CTB) es el parámetro utilizado por algunos autores³⁴³ para definir el coste de un tratamiento, siendo el resultado del coste de adquisición por el número de dosis diarias y días de duración del tratamiento.

Gran parte del apoyo a la pauta corta se ha basado en un deseo de disminuir los gastos en fármacos. En realidad, éstos son sólo una pequeña parte del gasto total en una infección urinaria (análisis de orina, urocultivo, consulta médica y tratamiento de complicaciones y efectos secundarios²²²), aunque pautas de monodosis tienen mejor relación coste-precio. Varios investigadores llegaron a la conclusión de que una pauta intermedia de tratamiento con una duración de tres días aproximadamente podría ser más efectiva que la pauta de dosis única, conservando muchas ventajas. Trienekens *et al.* compararon pautas de 3 y 7 días con trimetoprim-sulfametoxazol y encontraron que la mejoría sintomática y las tasas de recurrencia bacteriológica eran similares entre ambas. En el grupo

tratado tres días presentaban mejor cumplimiento del tratamiento y menor efecto secundario.

A la hora de obtener conclusiones de los resultados obtenidos habría que relacionar el precio real del tratamiento con el coste del envase, más que con el coste de las dosis necesarias, para tres días en este caso, al confirmar por encuesta epidemiológica realizada sobre este tema²³³, como es el período de tiempo óptimo para lograr resolver este proceso infeccioso con el mayor índice de cumplimiento²²⁷. Al ser el envase completo, la forma actual de conseguir el fármaco se en las oficinas de farmacia.

Aportaría ventajas significativas, desde el punto de vista de reducir costes: 1.º Facilitar el cumplimiento del tratamiento y evitar el almacenamiento de antimicrobianos en el hogar, con la posibilidad de originar intoxicaciones accidentales o el mal uso, en procesos posteriores, en ocasiones de origen viral y a veces ni siquiera de causa infecciosa. 2.º Plantear la presentación de antimicrobianos en envases con el número de dosis equivalentes al tratamiento, indicando el orden del día del tratamiento (1.º, 2.º y 3.º) y la dosis (1 y 2), con lo cual serían adquiridas únicamente las dosis necesarias, reduciendo costes y permitiendo al paciente seguir la evolución del cumplimiento de su tratamiento, para evitar los olvidos a la hora de su administración. 3.º Actuando directamente sobre uno de los factores más importantes que influyen en el aspecto económico de un fármaco, como es el coste por incumplimiento de dicho tratamiento, donde influye principalmente la duración del mismo, la frecuencia de administración y los efectos secundarios^{344, 245}.

A la hora de evaluar el coste global de una infección del tracto urinario extrahospitalaria, existen escasos trabajos realizados en el mundo y ninguno en nuestro país. La Fundación Jiménez Díaz, de Madrid, fue la pionera, como entidad privada, en analizar los costes de los diferentes procesos clínicos, para su posterior facturación. Todos los

estudios realizados referían a procesos hospitalarios y ninguno estaba relacionado con patología extrahospitalaria. En el resto del mundo, la situación es de características similares. Consultado el Profesor Stamm (Universidad Washington Medical Center), uno de los más destacados investigadores mundiales de ITUs en general y extrahospitalarias en particular, nos comenta, en agosto de 1996, cómo comparte la falta de estudios realizados sobre el tema que le consulto, remitiéndome amablemente su último trabajo³⁴⁶, relacionado con los costes correspondientes a tres días de tratamiento para cistitis agudas en la mujer. Es también para este eminente autor el tiempo óptimo de tratamiento para este proceso.

El análisis de los costes de cualquier proceso médico entra en un sistema multifactorial, algunos de cuyos parámetros son de complicada cuantificación. La complejidad no se limita al coste del diagnóstico y del tratamiento, que por sí mismos ya lo serían, al resultar necesario unificar técnicas empleadas y sus precios, antimicrobianos utilizados, pautas de tratamiento..., ni al coste de la consulta médica, que, según tarifas de la sociedades evaluadas, podría variar de 1.000 pesetas para atención primaria a algo más del doble para los especialistas médicos. Existen otros costes de aún más difícil evaluación, como pueden ser comodidad del paciente, seguridad, días de baja, coste de traslados, entre otros.

VII. Conclusiones

CONCLUSIONES

1. Las infecciones urinarias extrahospitalarias se presentan con mayor frecuencia en mujeres que en hombres en una proporción 3,7/1, alcanzando mayor porcentaje entre 20 y 29 años en la mujer y con más de 65 años en varones.
2. La etiología más frecuente en la población estudiada es *E. coli*, seguido a distancia por *Proteus mirabilis* y *Enterococcus faecalis*.
3. Con relación a las cepas productoras de hemolisinas, revelan mayor patogenicidad, siendo dolor renal-fiebre y hematuria macroscópica los principales.
4. No existe relación coste-beneficio por el aumento sistemático del número de medios de cultivo, la reincubación por 48 horas o la aplicación de condiciones especiales en el trabajo rutinario, aunque aportaría conocimientos sobre nuevos patógenos asociados a ITUs. Para el microbiólogo sería de gran utilidad el conocimiento del pH urinario y del sedimento urinario, permitiéndonos valorar posibles contaminaciones, y ante alcalinidad y piuria, practicar reincubación de la placa o incubación en CO₂ buscando patógenos no usuales.

5. La utilización del medio de agar sangre de reciente preparación nos permite observar hemólisis asociado a determinadas cepas de *E. coli* extrahospitalarias, orientando hacia posible presencia de factores de virulencia y determinantes de resistencia antimicrobianas.
6. Con relación a los costes diagnósticos de ITU, demostramos que el sedimento urinario y la tinción de Gram son suficientemente clarificantes para ser utilizadas como únicas pruebas de diagnóstico rápido de ITU extrahospitalario, siendo necesario mantener el cultivo y estudio de sensibilidades para confirmar un correcto tratamiento y un control epidemiológico de la etiología de ITU de nuestra población concreta.
7. Antimicrobianos como cotrimoxazol, fosfomicina y cefuroxima-axetilo son alternativa en el tratamiento de ITUs no complicadas extrahospitalarias por su elevada actividad, niveles urinarios óptimos, bajo índice de intolerancia y bajos costes las dos primeras, siendo posible su utilización en niños.
8. Es destacable la presencia de EPAs significativos en diferentes antimicrobianos frente a *E. coli*, tanto con hemolisinas como sin ellas, que permite la aplicación de tratamientos con mayor intervalo entre dosis, lo que equivale a menor número de dosis y asegura un mejor cumplimiento.
9. Tras el estudio del perfil farmacocinético y actividad bactericida de norfloxacin se aprecian importantes picos urinarios tras la administración de una dosis oral única de 400 mg, permitiendo mayor intervalo entre dosis en el tratamiento de infecciones bacterianas por patógenos sensibles.

VIII. Bibliografía

1. GARCÍA, P.; DÍAZ, J.; AGUADO, E.: "El laboratorio en el diagnóstico de las infecciones del tracto urinario". *Med. Integral*, 1990; 15: 155-163.
2. NATIONAL CENTER FOR HEALTH STATISTICS: 1985 Summary. "National ambulatory medical care survey". *Adv. Data* 128 (1985), 1-8.
3. FIHN, S.; STAMM, W. E.: "Management of women acute dysuria". *Emerg. Med. Annu.*, 1983; 2: 225-246.
4. QUEREDA, C.; CARBÓ, L. L.: *Manual de infecciones urinarias*. Ed. Grupo Jarpio, 1989.
5. JODAL, U.: "The natural history of bacteriuria in childhood". *Infect. Dis. Clin. North. Am.*, 1 (1987): 713-729.
6. BARNÉS, R. C.; DAIFUKU, R.; RODDY, R. E.; STAMM, W. E.: "Urinary tract infection in sexually active homosexual men". *Lancet* (1986): 171-173.
7. KUNIN, C. M.: *Detection, prevention and management of urinary tract infections*. 4th. ed. Lea and Febiger, Philadelphia (1987): 57-124.
8. BOSCIA, J. A.; KAYE, D.: "Asymptomatic bacteriuria in the elderly". *Infect. Dis. Clin. North Am.*, 1 (1987): 893-905.
9. BEAMUD, A.; JIMÉNEZ CRUZ, J. F.: "Infecciones urinarias en la edad pediátrica". En: JIMÉNEZ CRUZ, J. F. (Ed.). *Infección urinaria*. Edic. Doyma. Barcelona, 1991: 51-56.

10. SHAEFFER, A. J.; JONES, J.; DUNN, J. K.: "Association of in vitro *E. coli* adherence to vaginal and buccal epithelial cells with susceptibility of women to recurrent urinary tract infections". *N. Engl. J. Med.*, 1981; 304: 1062-1066.
11. STAMEY, T. A.: "The role of introital enterobacteria in recurrent urinary infections". *J. Urol.*, 1973; 109: 467-472.
12. NICOLLE, L. E.; HARDING, G. K. M.; PREIKSAITIS, J.; RONALD, A. R.: "The association of urinary tract infections with sexual intercourse". *J. Infect. Dis.*, 1982; 146: 579-583.
13. FIHN, S. D.; LATHAM, R. H.; ROBERTS, P.; RUNNING, K.; STAMM, W. E., *et al.*: "Association between diaphragm use and urinary tract infection". *JAMA*, 1985; 254: 240-245.
14. PATTERSON, T. F.; ANDRIOLE, V. T.: "Bacteriuria in pregnancy". *Infect. Dis. Clin. North. Am.*, 1987; 1: 807-822.
15. BROSETA, E.; JIMÉNEZ CRUZ, J. F.: "Infecciones urinarias en el embarazo". En: *Infección urinaria*. Ed. por Jiménez Cruz, J. F. Barcelona. Edic. Doyma, 1991; 51-56.
16. KRIEGER, J. N.: "Complications and treatment of urinary tract infections during pregnancy". *Urol. Clin. North Am.*, 1986; 13: 685.
17. NAEYE, R. L.: "Causes of the excessive rates of prenatal mortality and prematurity in pregnancies complicated by maternal urinary tract infections". *N. Engl. J. Med.*, 1979; 390: 819.
18. KAYE, D.: "Urinary tract infections in the elderly". *Bull New York. Acad. Med.*, 1980; 56: 209-220.
19. BOSCIA, J. A.; KAYE, D.: "Asymptomatic bacteriuria in the elderly". *Infect. Dis. North Am.*, 1987; 1: 893-905.
20. MENSA, J.: "Infecciones de las vías urinarias". En: FARRERAS P.; ROZMAN, C. (eds.): *Medicina Interna*. Barcelona: Doyma, 1992; II: 880-881.

21. MEDICAL RESEARCH COUNCIL COMMITTEE: "Recomended terminology of urinary tract infections". *Brit. Med. J.*, 1979; 2: 717-719.
22. CIFUENTES DELATTE, L.; VELA NAVARRETE, R.; SORIANO, F., *et al.*: "Infecciones urinarias por difteromorfos ureolíticos con cultivos falsamente negativos". *Arch. Esp. Urol.*, 1984, 37: 329.
23. SORIANO, F., *et al.*: "Urinary tract infection caused por *Corynebacterium* group D2": Report of 82 cases and review. *Rev. Infect. Dis.*, 1990; 12: 1019.
24. COLLINS, L. E.; CLARKE, R. W.; MASKELL, R.: "Steptococci as urinary pathogens?". *Lancet*, 1986; 2: 479-481.
25. MARRIE, T. J.; HARDING, J.; RONALD, A. R.: "Anaerobic and aerobic uretral flora in healthy females". *J. Clin. Microbiol*, 1978; 8: 67-72.
26. STAMM, W. E.: "Infecciones de las vías urinarias". En: HARRISON. 13 edic. *Principios de Medicina Interna*, 1994; II: 640.
27. SAEZ-LLORENS, X.; UMANA, M. A.; ODIO, C. M., *et al.*: "Bacterial contamination rates for non-clean-catch an clan-catch midatream urine collections in uncircumcised boys". *J. Pediatría*, 1989; 114 (1): 93.
28. WUPP, M. E.; SOPER, D. E.; ARCHER, G. L.: "Colonizing of the female genital tract with *Staphylococcus saprophyticus*". *J. Clin Micobiol.*, 1992; 90: 2975-2979.
29. NORBY, S. P.: "Principles for tergeted antibiotic use in urinary tract and enteric infections": A review with special emphasis on norfloxacin. *Scandinavian Journal of Infections Diseases; Suppl.* 1986; 48: 9.
30. BLANCO, J.; ALONSO, M. P.; BLANCO, M.; GONZÁLEZ, E. A.: "Mecanismos de patogénesis de *E. coli* causantes de infecciones extraintestinales". *Enf. Infec. Microbiol. Clin.*, 1991; 9: 640-651.

31. BLANCO, M.; BLANCO, J.; BLANCO, J. E.; ALONSO, M. P.; ABALIA, I.; RODRÍGUEZ, E.; BILBAO, J. R.; UMARAN, A.: "Factores de virulencia y serogrupos O de *E. coli* causantes de infecciones urinarias comunitarias". *Enf. Infec. Microbiol. Clin.*, 1995; 13: 236-241.
32. JOHNSON, J. R.; MOSELEY, S. L.; ROBERTS, P. L.; STAMM, W. E.: "Aerobactin and other virulence factor genes among strains of *E. coli* causing urosepsis". *Association with patient characteristic. Infect. Immun.*, 1988; 56: 405-412.
33. JOHNSON, J. R.: "Virulence factors in *E. coli* urinary tract infections". *Clin. Microbiol. Rev.*, 1991; 4: 80-128.
34. JOHNSON, J. R.; ORSKOV, I.; ORSKOV, R.; GOULLET, P.; PICARD, B.; MOSELEY, S. L.; ROBERTS, P. L.; STAMM, W. E.: "O, K and H antigens predict virulence factors, carboxylesterase B patterns, antimicrobial resistance, and host compromise among *E. coli* strain causing urosepsis". *J. Infect. Dis.*, 1994; 169: 119-126.
35. MARLID, S.; JODAL, U.; ORSKOV, I., *et al.*: "Special virulence of the *E. coli* O1: K1: H7 clone in acute pyelonephritis". *J. Pediatr.*, 1989; 115 (1): 40.
36. FOWLER, J. E., JR.; STAMEY, T. A.: "Studies of introital colonization in women with recurrent infections". VII. The role of bacterial adherence. *J. Urol.*, 1987; 117: 472.
37. BRUMFITT, W.; GARGAN, R. A.; HAMILTON-MILLER, J. M. T.: "Periurethral enterobacterial carriage preceding urinary infection". *Lancet*, 1987; 1: 824.
38. OZTURKERI, H.; KOCABEYOGLU, O.; YERGOK, Y. Z., *et al.*: "Distribution of coagulase-negative staphylococci, including the newly described species *Staphylococcus schleiferi*, in nosocomial and community acquired urinary tract infections". *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 1994 Dec. 13 (12): 1076-1079.
39. FOWLER, J. E.: "Urinary tract infections in women". *Urol. Clin. North Am.*, 1986; 13: 673.

40. LIPKY, B. A.: "Urinary tract infections in men. Epidemiology, pathophysiology, diagnosis, and treatment". *Ann. Intern. Med.*, 1979; 110: 138.
41. SOBEL, J. D.: "Pathogenesis of urinary tract infections: Host defenses. *Infect. Dis. Clin. North Am.*, 1987; 1: 751.
42. LOMBERG, H.; HANSON, L. A.; JACOBSSON, B., *et al.*: "Correlation of P blood group, vesicoureteral reflux, and bacterial attachment in patients with recurrent pyelonephritis. *N. Engl. J. Med.*, 1983; 308: 1189.
43. SHEINFELD, J.; SCHAEFFER, A. J.; CORDON-CARDO, C., *et al.*: "Association of the Lewis blood-group phenotype with recurrent urinary tract infections in women". *N. Engl. J. Med.*, 1989; 320: 773.
44. PAKKINEN, J.; VIRKOLA, R.; KORHONEN, T. K.: "Identification of factors in human urine that inhibit the binding of *E. coli* adhesins". *Infect Immun*, 1989; 57: 2256.
45. PARSONS, C. L.; MULHOLLAND, S. G., *et al.*: "Antibacterial activity of bladder surface mucin duplicated by exogenous glycosaminoglycan". *Infect Immun*, 1979; 24: 552.
46. BURDON, D. W.: "Immunoglobulins of the urinary tract, discussion on a possible role in urinary tract infection". En: BRUNFITT, W. Asscher, A. W. (Eds.): *Urinary tract infection*. Oxford University Press, 1973; 148: 58.
47. REINHAR, H. H.; SPENCER, J. R., *et al.*: "Quantitation of urinary Tamm-Horsfall protein in children with urinary tract infection". *Eur. Urol.*, 1992, 22 (3): 194-199.
48. SVANBORG-EDEN, C.; SVENNERHOLM, A. M.: "Secretory immunoglobulin A and G antibodies prevent adhesion of *E. coli* to human urinary tract epithelial". *Infect. Immun.*, 1982; 222: 790-797.
49. KURDYDYK, L. M.; KELLY, K.; HARDING, G. K. M., *et al.*: "Role of cervicovaginal antibody in the pathogenesis of recurrent urinary tract infections in women". *Infect Immun.*, 1980; 29: 76-82.

50. SHEHAB, Z. M.: "Urinary tract infection". En BARAKAT, A. Y. (Ed.): *Renal Disease in Children*. New York, Springer-Verlag, 1990: 157.
51. MOBLEY, H. L.; ISLAND, M. D.; MASSAD, G.: "Virulence determinants of uropathogenic *Escherichia coli* and *Proteus mirabilis*". *Kidney-Int., Suppl.*, 1994, Nov., 47-S1:29-36.
52. JOHSON, J. R.; ROBERTS, P. L.; STAMM, W. E.: "P-fimbriae and other virulence factors in *Escherichia coli* urosepsis". *J. Infect. Dis.*, 1987; 156: 225.
53. FREEDMAN, L. R.; BEESON, P. B.: "Experimental pielonephritis. Observation of infections resulting from direct inoculation of bacteria in different zones of the kidney". *Yale, J. Biol. Med.*, 1959, 30: 406.
54. JOHANSSON, S. L., FALL, M.: "The spectrum of light Microscopic changes in the bladders of patients with Interstitial cystitis (abstract)". *Lab. Invest.* 1988, 58: 43, A.
55. KASHGAVIAN, M., ROSAI, J.: "Urinary tract. In Rosai, J. Ackerman's. Surgical pathology". 7.^a edición. *Mosby-Company*, St. Louis, 1989; 1: 832-834.
56. SHEHAB, Z. M.: "Urinary tract infection". En BARAKAT A. Y. (Ed.): *Renal Disease in Children*. New York, Springer Verlag, 1990: 157.
57. BOSCIA, J. A.; KAYE, D.: "Asymptomatic bacteriuria in the elderly". *Infect. Dis. Clin. North Am.*, Dec. 1987: 893-905.
58. STAMM, W. E.: "Management of acute uncomplicated urinary tract infection in adults". *Med. Clin. North Am.*, 1991, 75: 339.
59. MEARES, E. M.; J. R.: "Acute and chronic prostatitis. Diagnosis and treatment". *Infect. Dis. Clin. North Am.*, 1987; 1: 855.
60. PFALLER, M. A.; KOONTZ, F. P.: "Laboratory evaluation of leukocyte esterase and nitrite test for the detection of bacteriuria". *J. Clin. Microbiol.*, 1985; 21: 840.
61. CIRIA, M.; ALVARADO, C. E.; IGLESIAS, M.: "Tira reactiva en el diagnóstico de infec-

ción urinaria: lectura visual comparada con lectura automática". *Med. Clin.* (Barcelona), 1988; 90: 573-575.

62. GARCIA, P.; DÍAZ, J.; AGUADO, E.: "El laboratorio en el diagnóstico de las infecciones del tracto urinario". *Med. Integral*, 1990; 15: 155-163.

63. STAMM, W. E.: "Quantitative urine cultures revisited". *Eur. J. Clin. Microbiol.*, 1984; 3: 279.

64. HISCOKE, C.; YOXALL, H.; GREIG, D.; LIGHTFOOT, N. F.: "Validation of a method for the rapid diagnosis of urinary tract infection suitable for use in General Practice". *British Journal of General Practice*, 1990; 40: 403-405.

65. RAWAL, K.; SENGUTTUVAN, P.; MORRIS, M.; CHANTLER, C.; SIMMONS, N. A.: "Significado del aspecto transparente de la orina". *The Lancet* (Ed. Esp.), 1992; 2: 81-85.

66. RUIZ-CANELA, M.; CAYUELA, A.: "Validez de las pruebas diagnósticas. Sesiones 91 para la Salud", 1991; 1: 19-22.

67. BERRY, G.; SCHWEITZER, S.: "Estudio de la orina". En: BERNARD HENRY, J. (Ed.): *Diagnóstico y tratamiento clínico (por el laboratorio)*. Novena edición. Ediciones Científicas y Técnicas, S.A. (Masson-Salvat Medicina), 1993: 399-400.

68. PEZZLO, M. T.; WETKOWSKI, M. A.; PETERSON, E. M., *et al.*: "Detection of bacteriuria and piuria within two minutes". *J. Clin. Microbiol.*, 1985; 21: 840.

69. COS, L. R.; COCKETT, A. T.: "Genitourinary tuberculosis revisited". *Urology*, 1982; 20: 43-46.

70. GOBERNADO, M.; CANÓS, M.; CAFFARENA, A.: "Diagnóstico microbiológico de la infección urinaria". En: *Plan de Formación en enfermedades infecciosas*. En: CISTERNA, J. R. (Edit.), 1993; 6: 54.

71. VEGA, D.; GONZÁLEZ, A.; ÁLAMO, I.; BORDES, A.; SÁNCHEZ, J.: "Valoración de las técnicas de Gram y de esterasa-nitritos frente a la de UIE-3 para la selección de orinas". *Rev. Esp. Microbiol. Clín.*, 1989; 7: 445-449.

72. LOCKHART, G. R.; LEWANDER, W. I.; CIMINI, D. M.: "Use of urinary gram stain for detection of urinary tract infection in infants". *Ann. Emerg. Med.*, 1995; 25 (1): 31-35.
73. MAZOYER, M. A.; ORENGA, S.; DOLEANS, F.; FRENEY, J.: "Evaluation of CPS ID2 Medium for Detection of Urinary Tract Bacterial Isolates in Specimens from a Rehabilitation Center". *Journal of Clinical Microbiology*, Apr., 1995: 1025-1027.
74. DOLÉANS, F.: "A new approach in bacteriology with chromogenic media". *Microbiología SEM.*, 10; 1994: 195-202.
75. KASS, E.: "Asymptomatic infection of the urinary tract". *Trans. Assoc. Am Physicians*, 1956; 69: 56-64.
76. PFALLER, M. A.; KOONTZ, F. P.: "Use of rapid screening tests in processing urine specimens by conventional culture and the AutoMicrobic system". *J. Clin. Microbiol.*, 1985; 21: 783.
77. HOLT, C. D.; BARRIÈRE, S. L.: "Pharmacokinetics and pharmacodynamics agents". *Current Opin Infect. Dis.*, 1992; 5: 749-754.
78. AZANZA, J. R.; CATALÁN, M.; HONORATO, J.; TRISTÁN, C.; ARIÑO, M.: "Utilidad práctica de los parámetros farmacocinéticos de los antibióticos". *Rev. Esp. Quimioterap.*, 1989; 2: 81-86.
79. CARS, O.: "Pharmacokinetics of antibiotics in tissues and tissue fluid: a review". *Scand. J. Infect Dis. (Supl.)*, 1991; 74: 23-33.
80. MERRIKIN, D. J.; BRIANT, J.; ROLLISON, G. N.: "Effect of protein binding on antibiotic activity in vivo". *J. Antimicrob. Chemother*, 1983; 11: 470-482.
81. CRAIG, W. A.; EBERT, S. C.: "Protein binding and its significance in antibacterial therapy". *Clinical Pharmacokinetics*, 1986; 11: 470-482.
82. MOLLERIG, R. C.: "Current Concepts in Antibiotic Tissue Penetration". *Langhorne: Adis International*, 1990; 1-15.

83. SHENTAG, J. J.: "Clinical significance of antibiotic tissue penetration". *Clinical Pharmacokinetics*, 1989; 16 Supl. 1: 25-31.
84. LIETMAN, P. S.: "Pharmacokinetics of Antimicrobial Agents". En: MANDELL, G. L.; DOUGLAS, R. G. Jr.; BENNETT, J. E., Editores: *Principles and Practice of infectious Diseases*, 3.^a ed. Nueva York: Churchill Livingstone, 1990; 228-230.
85. LIVERMORE, D. M.: "Antibiotic uptake and transport by bacteria". *Scand J. Infect. Dis. (Supl.)*, 1991; 74: 15-22.
86. BUSTAMANTE, C. I.; DRUSANO, G. L.; TATEM, B. A.: "Postantibiotic effect of imipenem on *Pseudomonas aeruginosa*". *Antimicrob Agents Chemother*, 1984; 26: 678-682.
87. PASTOR, A.; CANTON, E.; GOBERNADO, M.: "Efecto postantibiótico. I: Métodos de estudio y factores influyentes". *Rev. Esp. Quimioterapia*, 1992; 5: 201-210.
88. PASTOR, A.; CANTON, E.; GOBERNADO, M.: "Efecto postantibiótico (EPA). II: Antimicrobianos en que se ha descrito EPA, con especial referencia a las quinolonas". *Rev. Esp. Quimioterapia*, 1992; 5: 211-218.
89. VOGELMAN, B. S.; CRAIG, W. A.: "Postantibiotic effects". *J. Antimicrob. Chemother*, 1985; 15: 37-46.
90. KUMAR, A.; HAY, M. B.; MAIER, G. A.; DYKE, J. W.: "Post-antibiotic Effect of Ceftazidime, Ciprofloxacin, Imipenem, Piperacillin and Tobramycin for *Pseudomonas cepacia*". *J. Antimicrob. Chemother.*, 1992; 30: 597-602.
91. RENNEBERG, J.; WALDER, M.: "Postantibiotic effects of Imipenem, Norfloxacin and Amikacin *in vitro* and *in vivo*". *Antimicrob. Agents Chemother*, 1989; 33: 1714-1720.
92. CHIN, N. X.; NEU, H. C.: "Post-antibiotic suppressive effect of Ciprofloxacin against Gram positive and Gram negative bacteria". *Am. J. Med.*, 1987; 82 (4A): 58-62.
93. FUURSTED, K.: "Post-antibiotic effect and Killing of Ciprofloxacin against *Staphylococcus aureus*". *Acta Path. Microbiol Scand*, 1987; 95: 199-202.

94. KITZIS, M. D. L.; GUTMANN, ACAR, J. F.: "Recovery period after exposure of *Staphylococcus aureus* to subinhibitory and bactericidal concentrations of Rifampicin: clinical implications". *J. Antimicrob. Chemother*, 1984; 13 (C): 1-7.
95. HONDA, T.; HERNÁNDEZ, I.; KATH, T.: "Stimulation of enterotoxin production of *Clostridium difficile* by antibiotics". *Lancet*, 1983; 1: 65.
96. WILSON, D. A.; ROLINSON, G. N.: "The recovery period following exposure of bacteria to penicillins". *Chemother*, 1979; 25: 14-22.
97. CRAIG, W. A.; LEGGETT, J.; TOTSUKA, K.; VOGELMAN, B.: "Parámetros farmacocinéticos claves de la eficacia antibiótica en infecciones animales experimentales". *J. Drug Dev.*, 1988; 1 (3): 7-15.
98. VOGELMAN, B. S.; CRAIG, W. A.: "Postantibiotic effects". *J. Antimicrob. Chemother*, 1985; 15 (A): 37-46.
99. EAGLE, H.: "The recovery of bacteria from the toxic effects of penicillin". *J. Clin. Invest.*, 1949; 28: 832-836.
100. McDONALD, P. J.; CRAIG, W. A.; KUNIN, C. M.: "Brief antibiotic exposure and effect on bacterial growth". En: *Chemotherapy*, vol. 2, edited by WILLIAMS, J. D., and GEDDES A. M.: Plenum, New York, 1976; 2: 95-102.
101. LEE, C.; BLASER, J. J.: "Postantibiotic effect (PAE) is markedly influence by shaking conditions during exposure during to antibiotics concentrations". En: *Program and Chemotherapy Abstract* 383. American Society for Microbiology, Washington D. C., 1982:133.
102. HOHL, P.; FELBER, A. M.: "Effect of method, medium, pH and inoculum on the in vitro antibacterial of Fleroxacin and Norfloxacin". *J. Antimicrob. Chemother*, 1988; 22 (D): 71-80.
103. RETSEMA, J. A.; BRENNAN, L. A.; GIRAD, A. E.: "Effects of environmental factors on the in vitro potency of azitromycin". *Eur. J. Clin. Microbiol Infect. Dis.*, 1991; 10: 834-842.

104. BUNDTZEN, R. W.; GERBER, A. V.; COHN, D. L.; CRAIG, W. A.: "Postantibiotic supression of bactericial growth". *Rev. Infect. Dis.*, 1981; 3 (1): 28-37.
105. VANDER AUWERA, P.; KLASTERSKY, J.: "Serum bactericidal activity and postantibiotic effect in serum of patients with urinary tract infection receiving high-dose amikacin". *Antimicrob. Agents Chemother*, 1987; 31: 1061-1068.
106. MATTIE, H.: "Kinetic of antimicrobial action". *Rev. Infect. Dis.*, 1981; 3: 19-27.
107. GERBER, A. U.; WIPRACHTIGER, P.; STETTLER-SPICHTIGER, U.; LEBEK, G.: "Constant infusions v.s. intermitent doses of gentamicin against *P. aeruginosa* in vitro". *J. Infect. Dis.*, 1982; 145: 554-560.
108. BAQUERO, F.; CULEBRAS, E.; PATRÓN, C.; PÉREZ DÍAZ, J. C.; MEDRANO, J. C.: "Postantibiotic effect of Imipenem on Gram positive and Gram negative microorganisms". *J. Antimicrob. Chemother*, 1986; 18 (E): 47-59.
109. RICHARDS, J. C. S.; JASON, A. C.: "Electronic measurement of bacterial growth". *J. of Physics E-Scientific Instruments*, 1988, 11: 560-568.
110. GOULD, I. M.; JASON, A. C.; MILNE, K.: "Uso of the malthus microbial growth analyzer to study the postantibiotic effect of antibiotics". *J. Antimicrob. Chemother*, 1989; 24: 523-531.
111. WINSTANLEY, T. G.; HASTING, J. G. M.: "Penicillin-aminoglycoside synergy and postantibiotic effect for *Enterococci*". *J. Antimicrob. Chemother*, 1989; 23: 189-199.
112. RESCOTT, D. L.; NIX, D. E.; HOLDEN, P.: "Comparison of two methods for determining in vitro postantibiotic effec of three antibiotic on *Escherichia coli*". *Antimicrob. Agents and Chemother*, 1988; 32: 450-453.
113. LORIAN, V.; ERNST, J.; AMARAL, L.: "The post-antibiotic effect defined by bacterial morphology". *J. Antimicrob. Chemother*, 1989; 23: 485-491.

114. PRUUL, H.; WETHERALL, B.; McDONALD, P. J.: "Enhancement susceptibility of *Escherichia coli* to intracellular killing by human polymorphonuclear leukocytes after *in vitro* incubation with chloramphenicol". *Antimicrob. Agents Chemother*, 1981; 19: 945-51.
115. McDONALD, P. J.; WETHERALL, B. L.; PRUUL, H.: "Postantibiotic leukocyte enhancement: increased susceptibility of bacteria pretreated with antibiotics to activity of leukocytes". *Rev. Infect. Dis.*, 1981; 3: 38-44.
116. ADINOLFI, L.; UTILI, R.; DI LILLO, M. A.; TRIPODI, M. F.: "Intracellular activity of cefamandole and aztreonam against phagocytosed *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*". *J. Antimicrob. Chemother*, 1989; 24: 927-935.
117. LINGAAS, E.; MIDTVEDT, T.: "The influence of cefoperazone, cefotaxime, ceftazidime and aztreonam on phagocytosis by human polymorphonuclear leukocytes after brief exposure to aztreonam". *J. Antimicrob. Chemother*, 1988; 25: 91-101.
118. CRAIG, W. A.; GUDMUNDSSON, S.: "The postantibiotic effect. En: LORIAN V. (Ed.): *Antibiotics in Laboratory Medicine* el William and Willins Baltimore, 1986; 515-536.
119. GOULD, I. M.; MILNE, K.; JASON, C.: "Concentration-dependent bacterial killing, adaptive resistance and postantibiotic effect of ciprofloxacin alone and in combination with gentamicin". *Drugs under Experimental and Clinical Research*, 1990; 16: 621-28.
120. GOULD, I. M.; MILNE, K.: "Ionic binding, adaptive resistance and postantibiotic effect of netilmicin and ciprofloxacin". *J. Antimicrob. Chemother*, 1991; 27: 741-748.
121. ZHANEL, G. C.; HOBAN, D. J.; AND HARDING, G. K. M.: "The postantibiotic effect: a review of *in vitro* and *in vivo* data". *DICP, The Annals of Pharmacotherapy*, 1991; 25: 153-163.
122. MARIK, P. E.; LIPMAN, J.; KOBILSKI, S.; SCRIBANTE, J.: "A prospective Randomized Study Comparing Once, versus Twice-Daily Amikacin Dosing in Critically. III: Adult and Pediatric Patients". *J. Antimicrob. Chemother*, 1991; 28: 753-764.

123. PRINS, J. M.; BULLER, H. R.; KUIJPER, E. J.; TANGE, R. A.; SPEELMAN, P.: "Once versus Twice Daily gentamicin in Patients with Serious Infections". *Lancet*, 1993; 341: 335-339.
124. KHAN, W. N.; RODRÍGUEZ, W. J.; AHMAD, S., *et al.*: "23rd Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy". Las Vegas, *Abstrac*, 1983, n.º 351.
125. TOMASZ, A.: "From penicillin-binding proteins to the lysis and death of bacteria". A 1979 view. *Reviews of Infectious Diseases*, 1979; 1: 434-467.
126. LABIA, R.; PEDUZZI, J.: "Augmentin and betalactamases: inactivation of beta-lactamase by clavulanic acid". En: *Proc. Europ. Symp. Schevenengen* (1982). *Excerpta Medica*, 1983: 134-142.
127. NEU, H. C.: "Beta-lactamases: a perspective on the contribution of these enzymes to bacterial resistance". En: *Proc. Symp. New York* (1984). *Postgraduate Medicine*, 1984: 7-21.
128. BOON, R. J.; BEALE, A. S.; PIERCE, C. V.; SUTHERLAND, R.: "Efficacy of amoxycillin-clavulanic acid against experimental infections". En: *Proc. Europ. Symp. Scheveningen* (1982). *Excerpta Medica*, 1983; 53: 62.
129. BALDWIN, J. A.; COCKBURN, A.; WHITE, D. J.: "A summary of toxicology and reproduction studies of salts of clavulanic acid alone and formulated with amoxycilin". *Beecham Pharmaceuticals Research Division* (Informe interno), 1980.
130. PRIETO, J.; GRUPO DE ESTUDIO ESPAÑOL: "Actividad comparativa *in vitro* de cefuroxima y otros diez antimicrobianos frente a 4.678 aislados de pacientes no hospitalizados". *Rev. Esp. Quimioter.*, 1989; II (2): 179-185.
131. HARRIS, A. M.: *Cefuroxima after oral dosage with cefuroxime axetil. A profile of cefuroxime axetil. Proceedings of a Symposium at The Royal College of Physicians*. London, 1988: 50-52.

132. BERGOGNE-BEREZIN, E.: "Microbiology of acute paediatric infections". *Res. Clin. Forums*, 1990; vol. 12 (3).
133. HARDING, S. M., *et al.*: "Pharmacology of cefuroxime as the I-acetoxyethyl ester in volunteers". *Antimicrob. Agents Chemother*, 1984; 25 (1): 78-82.
134. CHRISTENSEN, B. G.; LEANZA, W. J.; BEATTIE, R., *et al.*: "Fosfomycin: structure and synthesis". *Science*, 1969; 166: 123-125.
135. KAHAN, F. M.; KAHAN, J. S.; CASSIDY, P.: "The mechanism of fosfomycin". *Ann. NY. Acad. Sci.*, 1974; 235: 364-386.
136. ANDREWS, J. M.; BAQUERO, F.; BELTRÁN, J. M.; CANTÓN, E., *et al.*: "International collaborative study on standardization of bacterial sensitivity to fosfomycin". *J. Antimicrob. Chemother*, 1983; 12: 357-361.
137. KIRBY, W. N.: "Pharmacokinetics of fosfomycin". *Chemotherapy*, 1977; 23 (Suppl. 1): 141-151.
138. SIROT, J.; LOPITAUX, R.; DUMONT, C.; RAMPON, S.: "Diffusion de la fosfomycine dans le tissu osseux chez l'homme". *Path. Biol.*, 1983; 31: 522-524.
139. HENDLIN, D.; CELOZZI, E.; WEISSBERGER, B.; FOLTZ, E. L.: *Chemotherapy*, 1977; 23 (Suppl. 1): 117.
140. ALLONA, A.; DÍAZ CABRERA, J. A.; MANCHADO, P.: "Adverse reactions to fosfomycine". *Chemotherapy* 1977; 23 (Suppl. 1): 267.
141. LLORÉNS, J.; LEY, G.; FORÉS, A.: *Chemotherapy*, 1977; 23 (Suppl. 1): 315.
142. GARCÍA, J. A.; PRIETO, J.; SÁENZ, M. C.: "Mechanisms of resistance of fosfomycine". *Chemotherapy* 1977; 23 (Suppl. 1): 45.
143. GUDIN, J.; SANTOS, M.; RUANO, M.; RAFECAS, J. AND GOBERNADO, M.: "Fosfomycin in the treatment of septicemia". In Fosfomycin. Proceeding of the International Symposium. México. March. 1986; 166-171.

144. DAZA, R.; MORENO-LOPEZ, M.; DÁMASO, D.: "Interracción of fosfomycin and other antibiotics". *Chemo therapy*. 1977; 23: 86-92.
145. PATEL, R. B.; WELLING, P. G.: "Clinical pharmacokinetics of cotrimoxazole". *Clin. Pharmacokinet*, 1980; 5: 405-423.
146. BETRIU, C.: "Cotrimoxazol". En: *Antimicrobianos. Boletín de Infecciones en la Comunidad*, 1994; 4; 3: 82.
147. DÁMASO, D.; MORENO-LÓPEZ, M.; DAZA, R.: *Antibióticos y quimioterápicos antibacterianos. Uso clínico*. Marketing Pharma. Madrid, 1984: 510-515.
148. JICK, H.: "Adverse reactions to trimethoprim-sulfamethoxazole en hospitalized patients". *Rev. Infect. Dis.*, 1982; 4: 426-428.
149. LAWSON, D. H.; PAICE, D. J.: "Adverse reactions to trimethoprim-sulfamethoxazole". *Rev. Infect. Dis.*, 1982; 4: 429-433.
150. HUOVINEN, P.: "Trimethoprim resistance". *Antimicrob. Agents Chemother*, 1987; 31: 1451-1456.
151. FOSTER, J. E.: "Plasmid-determined resistance to antimicrobial drugs and toxic metal ions in bacteria". *Microbiol. Rev.*, 1983; 47: 361-409.
152. LINARES, J.; PALLARÉS, R.; ALONSO, T.; PÉREZ, J. L.: "Trends in antimicrobial resistance of clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae* in Bellvitge Hospital". Barcelona, Spain (1979-1990). *Clin. Infect. Dis.*, 1992; 15: 99-105.
153. WOFSY, C. B.: "Use of trimethoprim-sulfamethoxazole en the treatment of *Pneumocystis carinii* pneumonia in patients with acquired immunodeficiency syndrome". *Rev. Infect. Dis.*, 1987; 9: S184-S191.
154. RAVIGLIONE, M. C.; NSAH, E. N.; CORTÉS, H.: "Intermittentco-trimoxazole prophylaxis against *Pneumocystis carinii* pneumoniae". *Lancet*, 1990; 336-180.
155. KOVATCH, A. L.; WALD, E. R.; ALBO, V. C.: "Oral trimethoprim-sulfamethoxazole

for prevention of bacterial infection during the infection phase of cancer chemotherapy in children". *Pediatrics*, 1985; 76: 754-760.

156. ROY, C.; SEGURA, C.: "Las nuevas quinolonas". *Medicine*, 1986; 73: 433-449.

157. CHIN, N. X.; NEU, H. C.: "In vitro activity of enoxacin a quinolone carboxylic acid compared with those of norfloxacin, new beta-lactams aminoglycosides and trimethoprim". *Antimicrob. Agents Chemother*, 1980; 4: 754-763.

158. CHIN, N. X.; NEU, H. C.: "Ciprofloxacin, a quinolone carboxylic acid compound active against aerobic and anaerobic bacteria". *Antimicrob. Agents Chemother*, 1984; 25: 319-326.

159. SMITH, J. T.; RATCLIFF, N. T.: "Einfluss von pH wert und magnesium auf die antibakterielle aktivitat von chinolo-preparaten". *Infection*, 1986; 14 (1): 31-35.

160. SMITH, J. T.: "Chemistry and mode of action of 4-quinolone agents". *Arbeitstag der Sektion. Antimikrobielle Chemoterapie der Paul-Erlich-Gesellschaft für Chemoterapie*, V, 1983. Munich.

161. CRUMPLIN, G. C.: "Aspects of chemistry in the development of the 4-quinolone antibacterial agents". *Rev. Infect. Dis.*, 1988; 10 (1): 2-9.

162. CHU, D. T. W.; FERNANDES, P. B.: "Structure-activity relationships of the fluoroquinolones". *Antimicrob. Agents Chemother*, 1989; 34: 681-684.

163. GELLERT, M.; MIZUUCHI, K. M. H.; O'DEA, T.: "Itoh and J. I. Tomizawa. Nalidixic acid resistance: a second genetic character involved in DNA gyrase activity". *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1977; 74: 4772-4776.

164. SUGINO, A.; PEEBLES, C. L.; KREUCER, K. N.; COZZARELLI, N. R.: "Mechanisms of action of nalidixic acid: purification of *Escherichia coli* nal A gene product and its relationship to DNA gyrase and another nicking-closing enzyme". *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1977; 74: 4767-4771.

165. SMITH, J. T.; LEWIN, C. S.: "Química y mecanismos de acción de los antibacterianos quinolonas". En: ANDRIOLE, V. T. (Ed.): *Las quinolonas*. Academic Press Limited, London, 1989: 25-90.
166. LEWIN, C. S.; MORRISEY, I.; SMITH, J. T.: "The mode of action of quinolones: the paradox in activity of low high concentrations and activity in the anaerobic environment". *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 1991; 10: 240-248 (número extraordinario): 41-47.
167. PATON, J. H.; REVEES, D. C.: "Antibióticos fluorquinolonas. Microbiología farmacocinética y uso clínico". *Drugs*, 1988; 36: 193-228.
168. SANDERS, C. C.; SANDERS, W. E.; GOERING, R. V.: "Overview of preclinical studies with ciprofloxacin". *Am. J. Med.*, 1987; 82: 2-11.
169. PARPIA, S. H.; NIX, D. E.; HEJMANOWSKI, L. G.; GOLDSTEIN, H. R.; WILTON, J. H.; SCHENTAG, J. J.: "Sucralfate reduces the gastrointestinal absorption of norfloxacin". *Antimicrob. Agents Chemother*, 1989; 33: 99-
170. HÖFFKEN, G.; BOERNER, K.; GLATZEL, P. D.: "Reduced enteral absorption of ciprofloxacin in the presence of antiacids". *Eur. J. Clin. Microbiol.*, 1984; 4: 345-349.
171. WISE, R.; LOKLEY, R. M.; WEBBERLY, M., *et al.*: "Pharmacokinetics of intravenously administered ciprofloxacin". *Antimicrob. Agents Chemother*, 1984; 26: 208-210.
172. MONTAY, G.; GOVELLON, Y.; ROQUET, F.: "Absorption, distribution, metabolic rate and elimination of pefloxacin mesylate in mice rats, dogs monkeys and humans". *Antimicrob. Agents Chemother*, 1984; 25: 463-472.
173. WOLFSON, J. S.; HOOPER, D. C.: "Fluoroquinolone antimicrobial agents". *Clin. Microbiol. Rev.*, 1989; 2: 376-424.
174. GIMARELLOU, H.; KOLOKYTHAS, E.; PETRIOKKOS, G., *et al.*: "Pharmacokinetics of three newer quinolones in pregnant and lactating women". *Am. J. Med.*, 1989; 87: 49-51.

175. STAHLMANN, R.: "Safety profile of the quinolones". *J. Antimicrob. Chemother*, 1990; 26 (D): 31-44.
176. WOOLFSON, J. S.; HOOPER, D. C.: "Overview of fluoroquinolone safety". *Am. J. Med.*, 1991; 91 (6A): 153S-161S.
177. WOOD, M. J.: "The quinolone antibiotics". *Current Opinion in Infectious Diseases*, 1988; 1: 356-62.
178. HOOPER, D. C.; WOLFSON, J. S.: "Bacterial resistance to the quinolone antimicrobial agents". *Am. J. Med.*, 1989; 87 (6C): 17-23.
179. POWER, E. G. M.; MUÑOZ BELLIDO, J. L.: "Phillips I. Detection of ciprofloxacin resistance in Gram negative bacteria due to alterations in gyr". *A. J. Antimicrob. Chemother*, 1992; 29: 9-17.
180. LEWIN, C. S.; HOWARD, B. M. A.; SMITH, J. T.: "4-Quinolone interactions with gyrase subunit B inhibitors". *J. Med. Microbiol.*, 1991; 35: 358-362.
181. YOSHIDA, H.; NAKAMURA, M.; BOGAKI, M.; NAKAMURA, S.: "Proportion of DNA gyrase mutants among quinolone-resistant strains of *Pseudomonas aeruginosa*". *Antimicrob. Agents Chemother*, 1990; 34: 1273-1275.
182. NEU, H. C.: "Quinolonas, nuevos antimicrobianos con amplias posibilidades de uso". En: *Clínicas Médicas de Norteamérica*. Interamericana, Madrid, 1988; 663-678.
183. CHAPMAN, J. S.; GEORGE PAPADAKOU, N. H.: "Routes of quinolone permeation in *Escherichia coli*". *Antimicrob. Agents Chemother*, 1988; 32: 438-442.
184. URINARY TRAC INFECTIONS: *Quinolones Bulletin*, 1985; 1: 19-20.
185. BRYAN, J. P.; ROCHA, H.; SHELD, W. M.: "Problems in Salmonellosis. Rationale for clinical trials with newer B-lactam agents and quinolones". *Rev. Infect. Dis.*, 1986; 8: 89-207.
186. ROGERIE, F.; OH, D.; VANDEPITTE, J.; VERBIST, L.; LEMMENS, P.; HABİYAREMY, J.: "Com-

parisons of norfloxacin and nalidixic acid for the treatment of dysentery caused by *Shigella dysenteriae* type I in adults". *Antimicrob. Agents Chemother*, 1986; 29: 883-886.

187. PICHLER, H.; DIRIDL, G.; WOLF, D.: "Ciprofloxacin in the treatment of acute bacterial diarrhea: a double blind study". *Eur. J. Clin. Microbiol.*, 1986; 5: 241-243.

188. HUDSON, S. J.; INGHAM, H. R.; SNOW, M. H.: "Treatment of *Salmonella typhi* carrier state with ciprofloxacin". *Lancet*, 1985; 1: 1047.

189. DIRIDL, G.; PICHLER, H.; WOLF, D.: "Treatment of chronic salmonella carries with ciprofloxacin". *Eur. J. Clin. Microbiol.*, 1986; 5: 260-261.

190. EASMON, C. S. F.; CRAHE, J. P.; BLOWERS, A.: "Effect of ciprofloxacin on intracellular organisms: *In vitro* and *in vivo* studies". *J. Antimicrob. Chemother*, 1986; 18 (D): 443-448.

191. GILBERT, D.; TICE, D.; MARSH, *et al.*: "Oral ciprofloxacin therapy for chronic contiguous osteomyelitis caused by aerobic Gram negative bacilli". *Am. J. Med.*, 1987; 82 (4A): 254-258.

192. SLAMA, T. G.; MISINSKI, J.; SKLAR, S.: "Oral ciprofloxacin therapy for osteomyelitis caused by aerobic Gram negative bacilli". *Amer. J. Med.*, 1987; 82 (4A): 259-261.

193. BALL, A. P.: "Overview of clinical experience with ciprofloxacin". *Eur. J. Clin. Microbiol.*, 1986; 5: 214-219.

194. DOW, J.; CHAZAL, J.; FRYDMAN, A. M.: "Transfer kinetic of pefloxacin into cerebrospinal fluid after one hour i.v. infusion of 400 mg in man". *Antimicrob. Chemother*, 1986; 17 (B): 81-87.

195. STUBNER, G.; WEINRICH, W.; BRANDS, U.: "Study of the cerebrospinal fluid penetrability of ofloxacin". *Infection*, 1986; 14 (4): 250.

196. NEU, H. C.: "Clinical use of the quinolones". *Lancet*, 1987; 2: 1319-1322.

197. GREEMBERG, R. N.; KENNEDY, J.; REILLY, P. M., *et al.*: "Treatment of bone, joint and

soft-tissue infections with oral ciprofloxacin". *Antimicrob. Agents Chemother*, 1987; 31: 151-155.

198. SELF, P. L.; ZELUFF, B. A.; SOLLO, D., *et al.*: "Use of ciprofloxacin in the treatment of serious skin structure infections". *Amer. J. Med.*, 1987; 82 (4A): 239-241.

199. BISCHOFF, W.: "Ofloxacin. Therapeutic results in *Chlamydia Trachomatis urethritis*". *Infection*, 1986; 14 (4): S316-S317.

200. FRANSEN, L.; AVONTS, D.; PIOT, P.: "Treatment of genital chlamydial infection with ofloxacin". *Infection*, 1986; 14 (4): S318-S320.

201. YOUNG, L. S.: "The new fluorinated quinolones for infection prevention in acute leukemia". *Ann. Intern. Med.*, 1987; 106: 144-146.

202. DEKKER, A. W.; ROZENBERG A., VERHOEF, J.: "Infection prophylaxis in acute leukemia: a comparison of ciprofloxacin with trimethoprim-sulfamethoxazole and colistin". *Ann. Intern. Med.*, 1987; 106: 7-12.

203. CORRADO, M. L.; STRUBLE, W. E.; PETER, C.; HOAGLAND, V.; SABBAJ, J.: "Norfloxacin: Review of safety studies". *Am. J. Med.*, 1987; 82 (6B): 22-26.

204. BAYER, A. G.: *Ciprobay Ciprofloxacin Standard Information*. Bayer, Leverkusen, 1987.

205. HÖFKEN, G.; BORNER, K.; GLATZEL, P. D.; KOEPPE, P.; LODE, H.: "Reduced enteral absorption of ciprofloxacin in the presence of antacids (Letter)". *Eur. J. Clin. Microbiol.*, 1985; 4: 345.

206. HÖFKEN, G.; LODE, H.; WILLY, R.; GLATZEL, T. D.; SIEVES, D.; OLSCHESKI, T.; BORNER, K.; KOEPPE: "Pharmacokinetics and interactions in the bioavailability of new quinolones". *International Symposium on New Quinolones*, Geneva, 1986; 141.

207. HÖFKEN, G.; LODE, H.; WILLEY, R.; GLATZEL, P. D.; BORNER, K.; KOEPPE, P.: "In Pro-

ceedings of the 14 th International Congress of Chemotherapy, Kyoto 1985". 1985; 1606-1607. University of Tokyo Press, Tokyo.

208. WIJNANDS, W. J.; UREE, T. B.; HERWAARDEN, C. L. A.: "Quinolones increase plasma theophylline levels in patients with COLD, Br". *J. Clin. Pharmacol.*, 1986; 22: 667-683.

209. RAOOF, S.; WOLLSCHLAGER, C.; KHANAN, F. A.: "Ciprofloxacin increases serum levels of theophylline". *Am. J. Med.*, 1987; 82 (4A): 115-123.

210. DAVIES, B. L., MASEN, P. V.: "Drug interactions with quinolones". *Res. Infect. Dis.*, 1989; 11 (Suppl. 5): 1083-1090.

211. GREGORIE, S. L.; GRASELA, JR. TH. H.; FREER, J. P.; TACK, K. J.; SCHENTAG, J. I.: "Inhibition of theophylline clearance by coadministered ofloxacin without alteration of theophylline effects". *Antimicrob. Agents Chemother*, 1987; 31: 375-378.

212. FOURTILLAN, J. B.; GRANIER, J.; SAINT-SALVI, B.; SALMON, J.; SURJUS, A.; TREMBLAY, D. DULAURIER, M. V.; BECK, S.: *Infection*, 1986; 14 (1): 67-69.

213. DIRKSEN, M.; BOEREMA, J. AND DALHOFF, A.: In: "Proceeding of the 14 th International Congress of Chemotherapy, Kyoto 1985". 1985; pp: 867-868. University of Tokyo Press, Tokyo.

214. GARCÍA RODRÍGUEZ, J. A.: "Microbiología de ciprofloxacina". *Drugs of Today*, 1988; 24 (8): 1-10.

215. BERGAN, T.; THORSTEINSSON, S. B.; SOLBERG, R., *et al.*: "Pharmacokinetics of ciprofloxacin: Intravenous and increasing oral doses". *Am. J. Med.*, 1987; 82 (4A): 97-107.

216. SWANSON, B. N.; BOPPANA, U. K.; VLASSES, P. H., *et al.*: "Norfloxacin disposition after sequentially increasing oral doses". *Antimicrob. Agents Chemother*, 1983; 23: 284-288.

217. GUTMANN, L.; ACAR, J. F.: "Resistance to quinolones associated with cross-resistance to other families of antibiotics". *Quinolones Bulletin*, 1990; 6: 18-20.

218. COURVALIN, P.: "Plasmid-mediated 4-quinolone resistance: a real or apparent absence". *Antimicrob. Agents Chemother*, 1990; 34: 681-684.
219. HONORATO PÉREZ, J.; SUÁREZ-OCHOA, J. R.; ARANZA PEREA, J. R.: "Farmacología clínica de las fluorquinolonas". *Medicine*, 1988; Nov. (número extraordinario): 41-47.
220. DETSKY, A. S.; NAGLIE, G. N.: "A clinician's guide to cost-effectiveness analysis". *Ann Intern. Med.*, 1990; 113: 147-154.
221. CIMINO, M. A.; COLEMAN, M. R.; MOSER, J. E.: "Assessment of infections in cancer patients". *Ann Pharmacother*, 1994; 28: 105-111.
222. GALICIA, I.; FRÍAS, J.: "Economía Clínica. Algunas consideraciones farmacoeconómicas sobre el empleo de los antibióticos". En *Salud Rural*, 1994; XI, núm 14 (primera quincena de noviembre), 1-9.
223. NIGHTINGALE, C. H.; BELLIVEAU, P. P.; QUINTILIANI R.: "Problemas y consideraciones sobre el coste en la selección de un antimicrobiano". *Infect. Dis. Clin. Practice* (Ed. española), 3: 154-158, 1994.
224. EISEN, S. A.; MILLER, D. K.; WOODWARD, R. S., *et al.*: "The effect of prescribed daily dose frequency on patient medication compliance". *Arch. Intern. Med.*, 1881-1884; 1990.
225. HANRAHAN, M.; O'MALLEY, K.: "Compliance with drug treatment". *B. M. J.*, 1981, 283: 298-300.
226. MACROESTUDIO SOCIO-EPIDEMIOLÓGICO: *Infecciones extrahospitalarias y antibioterapia en España*. Laboratorios Funk. Madrid, 1995: 51.
227. GROBB, P. R.: "Hábitos de prescripción de antibióticos y cumplimiento por parte del paciente en la comunidad". *Scand J. Infect. Dis.*, Suppl. 1992, 83: 714.
228. FREUND, D. A.; DITTUS, R. S.: "Principles of pharmacoeconomic analysis of drug therapy". *Pharmacoeconomics*, 1992; 1: 20-32.

229. SACRISTÁN, J. A.; SOTO, J.; GALENDE, I.: "Evaluation of pharmacoeconomics studies: utilization of a checklist". *Ann Pharmacother*, 1993; 27: 1126-1133.
230. MACROESTUDIO SOCIO-EPIDEMIOLÓGICO.: *Infecciones extrahospitalarias y antibioterapia en España*. Laboratorios Funk. Madrid, 1995: 53.
231. MACROESTUDIO SOCIO-EPIDEMIOLÓGICO: "Infecciones extrahospitalarias y antibioterapia en España". Laboratorios Funk. Madrid, 1995: 43-44.
232. MACROESTUDIO SOCIO-EPIDEMIOLÓGICO: "Infecciones extrahospitalarias y antibioterapia en España". Laboratorios Funk. Madrid, 1995: 47.
233. MACROESTUDIO SOCIO-EPIDEMIOLÓGICO: "Infecciones extrahospitalarias y antibioterapia en España". Laboratorios Funk. Madrid, 1995: 49-50.
234. LIU, P. Y.; GUR, D.; HALL, L.; LIVERMORE, D. M.: "Survey of the prevalence of beta-lactamases amongst 1.000 Gram-negative bacilli isolated consecutively at the Royal London Hospital". *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 1992, 30: 429-447.
235. BURMAN, L. G.; HAEGGMAN, S.; KUISTILA, M. *et al.*: "Epidemiology of Plasmid-Mediated beta-lactamases in Enterobacteria in Swedish Neonatal Wards and Relation to Antimicrobial Therapy". *Antimicrobial Agents Chemotherapy*. May, 1992: 989-992.
236. SAHM, D. F.: "Mechanisms of Antimicrobial Resistance". *Clinical Microbiology Newsletter*, 1989, 11: 9-13.
237. WIEDEMANN, B.; KLIEBE, C.; KRESKEN, M.: "The epidemiology of beta-lactamases". *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 1989, 24: 1-22.
238. SORIANO, F.: "Betalactamasas plasmídicas". En: *Betalactamasas. Su importancia para el clínico*. GÓMEZ-LUS, R. y GARAU, J. (Edit.): Smith Kline Frnech, S. A. E. Madrid, 1992: 53-56.
239. MAYER, K.; OPAL, S.; MEDEIROS, A.: "Mecanismos de resistencia a los antibióti-

cos". En: *Enfermedades infecciosas*, 3.^a ed. MANDELL, G.; DOUGLAS, R.; BENNETT, J. Panamericana. Buenos Aires, 1991: 230-232.

240. THOMSON, C. J.; AMYES, S. G. B.: "Molecular epidemiology of the plasmid-encoded TEM-1 beta-lactamase en Scotland". *Epidemiol. Infect.*, 1993: 117-125.

241. TOGSVERD, E.; MANSA, B.; KEIDING, J.: "Studies on beta-lactamases from *Escherichia coli* isolated from urinary tract infections". *APMIS*, 1990; 98: 345-352.

242. COOKSEY, R.; SWENSON, J.; CLARK, N.; GAY, E., *et al.*: "Patterns and Mechanisms of beta-Lactam Resistance among Isolates of *Escherichia coli* from Hospitals in the United States". *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. May, 1990: 739-745.

243. ASSCHER, A. W., *et al.*: "Urine as medium for bacterial growth". *Lancet*, 1966. 2: 1037-1041.

244. ARMSTRONG, M. D. Ñ., *et al.*: 1955. "Endogenous formation of hippuric acid". *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 90: 675-679.

245. STAMEY, T. A., *et al.*: 1968. "Antibacterial nature of poststatic fluid". *Nature*, 218: 444-449.

246. HAND, W. L., *et al.*: 1971. "The antibacterial effect of normal and infector urinary bladder". *J. Lab. Clin. Med.*, 77: 605-615.

247. PARSONS, C. K., *et al.*: 1981. "Impairment of antibacterial effect of bladder surface mucin by protamine sulfate". *J. Infect. Dis.*, 144-180.

248. LINSAY, E.; NICOLLE, T.: "Measurement and Significance of Antibiotic Activity in the urine". *Antibiotics in Laboratory Medicine*, 1986; Víctor Lorian, M. D. Editor, 3.^a ed.

249. BERGAN, T., DALHOFF, A., ROHWEDDER, R.: "Pharmacokinetics of ciprofloxacin". *Infection*, 1988; 16 (Suppl. 1): 3-13.

250. KLASTERSKY, J.: "The bactericidal activity in serum and its prognostic clinical value". *Infection*, 11 (1983). Suppl. 2, 93-96.

251. KLASTERSKY, J.; ZINNER, S. H.: "Synergistic combinations of antibiotics in gram-negative bacillary infections". *Rev. Infect. Dis.*, 3.^o (1980): 74-83.
252. BRITAIN, D. C.; SCULLY, B. E.; MCELATH, M. J., *et al.*: "The pharmacokinetics and serum and urine bactericidal activity of ciprofloxacin". *J. Clin. Pharmacol.*, 25 (1985): 82-88.
253. LAGAST, H.; HUSSON, M.; KLASTERSKY, J.: "Bactericidal activity in serum and urine against *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus faecalis*". *J. Antimicrobial Chemother*, 16 (1985): 341-347.
254. STAMEY, T. A.; GOVAN, D. E.; PALMER, J. M.: "The localization and treatment of urinary tract infections: the role of bactericidal urine levels as oppose to serum levels". *Medicine*, 1965, 44: 1-36.
255. MCCABE, W. R.; JACKSON, G. G.: "Treatment of pyelonephritis: bacterial drug and host factors in success or failure among 252 patients". *N. Engl. Journal Med.*, 1965; 272: 1037-1044.
256. STAMEY, T. A.; FAIR, W. R.; TIMOTHY, M. M., *et al.*: "Serum versus urinary antimicrobial concentrations in case of urinary tract infections". *N. Engl. J. Med.*, 1974; 291: 1159-1163.
257. SOLBEL, D.; KAYE, D.: "Urinary tract infections". En: *Principles and practice of Infectious Diseases*. MANDELL, DOUGLAS, BENNETT (Eds.). 3.^a ed. Churchill Livingstone Inc., New York, 1990: 582-611.
258. GOULD, J. C.: "The comparative bacteriology of acute and chronic urinary tract infection". En: O'GRADY, F.; BRUMFITT, W. (Eds.): *Urinary tract infection*. London, Oxford University Press, 1968: 43-50.
259. ZEILER, H. J. D.; BEERMANN, W.; WINGENDER, D.; FOSTER, *et al.*: "Bactericidal activity of ciprofloxacin, norfloxacin and ofloxacin in serum and urine after oral administration to healthy volunteers". *Infection*, 1988, 16, Suppl. 1, 19-23.

260. NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS: "Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically", 2th ed.; *Approved Standard*. NCCLS Document M7-A2. Villanova, pág. 1991.
261. JONHSON, J. R.: "Virulence factors in *Escherichia coli* urinary tract infections". *Clin. Microbiol. Rev.*, 1991; 4: 80-128.
262. FERNÁNDEZ, F. J.; CANTÓN, R.; LEÓN, A.; MARTÍNEZ-FERRER, M.; BAQUERO, F.: "Phenotypic association between antibiotic resistance and virulence determinants in uropathogenic *E. coli* isolates". *Rev. Esp. Quimioterap.*, 1992; 5: 313-316.
263. GÓMEZ, C.; SEGOVIA, M.: "Relación entre factores de virulencia y resistencia a antibióticos en cepas uropatógenas de *Escherichia coli*". *Rev. Esp. Quimioterap.* Diciembre, 1995; vol. 8 (4): 303-307.
264. BLUM, G.; OTT, M.; LISCHEWSKI, A.; IMRICH, H.: "Excision of large DNA regions termed pathogenicity islands from TRNA-specific loci wild-type pathogen". *Infect. Immun.*, 1994; 62: 606-614.
265. ZGUR BERTOK, D.; MODRIC, E.; GRABNAR, M.: "Aerobactin uptake system". Col. V production, and drug resistance encoded by a plasmid from an urinary tract infection *Escherichia coli* strain of human origin. *Can. J. Microbiol.*, 1990; 36: 297-299.
266. ABALIA, I.; VARGAS, M. J.; RODRÍGUEZ, E.; UMARAN, A.; CISTERNA, R.: "Plásmidos asociados a factores de virulencia en cepas hospitalarias de *Escherichia coli* aisladas en infecciones urinarias". *Enf. Infec. Microbiol. Clin.*, 1989; 5: 456-461.
267. KROOFELT, K. A.: "Bacteria adhesion: Genetics, biogenesis, and role in pathogenesis of fimbrial adhesins of *Escherichia coli*". *Rev. Infect. Dis.*, 1991; 13: 721-735.
268. DE MAN, P.; JODAL, U.; VAN KOOTEN, SVANBORG, C.: "Bacterial adherence as a virulence factor in urinary tract infection". *Apmis*, 1990; 98: 1053-1060.

269. GOULD, I. M.: "Risk factors for acquisition of multiply drug resistant Gram-negative bacteria". *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 1994; suppl. 1: 30-38.
270. STAMM, W. E.; HOOTON, T. H.; JOHNSON, J. R.: "Urinary tract infections: From pathogenesis to treatment". *J. Infect. Dis.*, 1989; 159: 400-406.
271. ANDRIOLE, V. T.: "The future of the quinolones". *Drugs*, 1993; suppl 3: 1-7.
272. PÉREZ-TRALLERO, E.; URBIETA, M.; JIMÉNEZ, D.; GARCÍA-ARENZANA, J. M.: "Ten-year survey of quinolone resistance in *Escherichia coli* causing urinary tract infections". *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 1993; 12: 349-351.
273. AUEBERT, G.; LEVY, P. P.; ROS, A.; MELEY, R.: "Changes in the sensitivity of urinary pathogens to quinolones between 1980 and 1990 in France". *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 1992; 11: 474-477.
274. GÓMEZ, C.; SEGOVIA, M.: "Relación entre factores de virulencia y resistencia a antibióticos en cepas uropatógenas de *Escherichia coli*". *Rev. Esp. Quimioterap.* Diciembre 1995, vol. 8 (4): 305.
275. GÓMEZ, C.; GUTIÉRREZ, M.; ENRÍQUEZ, A.; BAQUERO, M.: "Comparación de tres métodos para el diagnóstico de infecciones del tracto urinario". En: *Programa y abstract del XIV Congreso Nacional de Microbiología*, 1993; abstract CP 10-4-2. Zaragoza, pág. 159.
276. WALKDEN, D.; KLUGMAN, K. P.; NAIDOO, P.: "Urinary tract infection with *Corynebacterium urealyticum* in South Africa". *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 1993; Jan. 12 (1): 18-24.
277. MASKELL, R.: "A new look at the diagnosis of infection of the urinary tract and its adjacent structures". *Journal of Infection*, 1989; 19: 207-217.
278. MURRAY, P.; TRAYNOR, P.; HOPSON, D.: "Evaluation of microbiological processing of urine specimens: Comparison of overnight versus two-day incubation". *Journal of Clinical Microbiology*, June, 1992: 1600-1601.

279. SORIANO, F., et al.: "Uninary tract infection caused by *Corynebacterium* group D2: Report of 82 cases and review". *Rev. Infect. Dis.*, 1990; 112-119.
280. GARCÍA, P.; GONZÁLEZ, M. C.; SÁEZ, A.; MARTÍN, M.; AGUDO A.: "Utilidad del screening urinario para predecir la bacteriuria significativa". *Rev. Diagnos. Biol.*, 1988; 37: 81-83.
281. DITCHBURN, R.; DITCHBURN, J.: "A study of microscopical and chemical test for the rapid diagnosis of urinary tract infections in general practice". *British Journal of General Practice*, 1990; 40: 406-408.
282. HISCOKE, C.; YOXALL, H.; GREIG, D.; LIGHTFOOT, N. F.: "Validation of a method for the rapid diagnosis of urinary tract infection suitable for use in General Practice". *British Journal of General Practice*, 1990; 40: 403-405.
283. VEGA, D.; GONZÁLEZ, A.; ÁLAMO, I.; BORDÉS, A.; SÁNCHEZ, J.: "Valoración de las técnicas de Gram y de esterasa-nitritos frente a la de UID-3 para la selección de orinas". *Rev. Esp. Microbiol. Clín.*, 1989; 7: 445-449.
284. SOBEL, J. D.: "Bacterial etiologic". Agents in the pathogenesis of urinary tract infection. *Medical Clinics of North America*, 1991; vol. 75, n.º 2: 253.
285. STAMM, W.: "Infecciones de las vías urinarias y pielonefritis". En: HARRISON (Ed.): *Principios de medicina interna*. Interamericana, 1994: 642-643.
286. LÓPEZ-BREA, M.; ALÓS, J. L.; AYARZA, R.; BAQUERO, M.: "*Staphylococcus saprophyticus* en ITU". *Rev. Sanid. Hig. Pública*. Madrid, 1984, 58: 675-680.
287. HOOTON, M.; HOOTON, M. D.; STAMM, W.: "Managent of acute uncomplicated urinary tract infection in adults". *Medical Clinics of North America*, 1991; 75 (2): 342.
288. KEANE, W. F.; WELCH, R., et al.: "Mechanism of *Escherichia coli* alfa-hemolysin-induced injury to isolated renal tubular cells". *Am. J. Pathol.*, 1991, 236: 350.

289. LOW, D.; DAVID, V.; LARK, D., *et al.*: *Gene clusters governing the production of hemolysin and mannose-resistant hemagglutination are closely linked in "Escherichia coli": Reviews and Methods*. London, Academic Press, 1990: 425.
290. MOBLEY, H. L.; GREEN, D. M.; TRIFILLIS, A. L., *et al.*: "Pielonephritogenic *Escherichia coli* and killing of cultured human renal proximal tubular epithelial cell: Role of hemolysin in some strains". *Infect. Immun.*, 1990, 58: 1281.
291. MONTGOMERIE, J. Z.; BINDEREIF, A.; NEILANS, J. B., *et al.*: "Association of hydroxamate siderophore (aerobactin) with *Escherichia coli* isolated from patients with bacteremia". *Infect. Immun.*, 1984, 84: 835.
292. MACKMAN, N.; WILLIAMS, P. H.: "Detection of alfa hemolysin production by clinical of *Escherichia coli*". En: SUSSMAN, M. (Ed.): *The virulence of "Escherichia coli": Reviews and Methods*. London. Academic Press, 1985: 425.
293. MOELLERING, R. G.: "Interaction between antimicrobial consumption and selection of resistant bacterial strains". *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 1990. Supplement 70: 18-24.
294. PÉREZ-TRALLERO, E.; URBIETA, D.; JIMÉNEZ, J. M., *et al.*: "Ten-year survey of quinolone resistance in *Escherichia coli* causing urinary tract infections". *Europ. Jour. of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 1993, 12 (5): 349-351.
295. ODENHOLT-TORNQVIST, I.: "Pharmacodynamics of beta-lactam antibiotics. Studies of the paradoxical and postantibiotic effects *in vitro* and in animal model". *Scandinavian J. Infect. Dis.*, 1990 (58): 1-55.
296. CRAIG, W. A.; GUDMUNDSSON, S.; VOGELMAN, H.: "Unpublished observation cited in: Postantibiotic effect (pp. 403-431). W. A. Craig and S. Gudmundsson. Lorian, 1989.
297. GERBER, A. V.; CRAIG, W. A.: "Growth kinetics of respiratory pathogens after short exposure to ampicillin and erythromycin *in vitro*". *J. Antimicrob. Chemother.*, 1981; 8 (C): 581-591.

298. BRUNDTZEN, R. W.; GERBER, A. V.; COHN, D. L.; CRAIG, W. A.: "Postantibiotic suppression of bactericidal growth". *Rev. Infect. Dis.*, 1981; 3 (1): 28-37.
299. RESCOTT, D. L., NIX, D. E., HOLDEN, P., AND SCHENTAG, J. J.: "Comparison of two methods for determining in vitro postantibiotic effect of three antibiotics on *Escherichia coli*". *Antimicrob Agents and Chemother.* 1988; 32: 450-453.
300. WILSON, D. A.; ROLINSON, G. N.: "The recovery period following exposure of bacteria to penicillins". *Chemother.* 1989; 25: 14-22.
301. ESPINOZA, A. M.; CHIN, X.; NOVELLI, A.; NEU, H. C.: "Comparative *in vitro* activity of a new fluorinated 4-quinolone; T-3262". *Antimicrob. Agents Chemother.* 1988; 32: 663-670.
302. NEU, H. C.; NOVELLI, A.; CHIN, N. X.: "Comparative *in vitro* activity of new quinolone, AM-1091". *Antimicrob. Agents Chemother.* 1989; 33: 1036-1041.
303. MACKENZIE, F. M.; GOULD, J. M.: "The postantibiotic effect". *J. Antimicrob. Chemother.* 1993; 32: 519-537.
304. LORIAN, V.: "Effects of low antibiotic concentrations on bacteria: effects on ultrastructure, their virulence, and susceptibility to immunodefenses". En: *Antibiotics*, in Laboratory Medicine Williams and Wilkins. Baltimore, 1986: 596-668.
305. MACKENZIE, F. M.; GOULD, J. M.: "The post Antibiotic Effect". *J. Antimicrob. Chemother.* 1993; 32: 519-537.
306. ODENHOLT-TORNQUIST, J., LÖWCLIN, E.; CARL, O.: "Pharmacodynamic effects of subinhibitory concentrations of roxytomicin and vancomycin". En: *Program and Abstracts of the thirty First Interscience Conference on Antimicrob. Agents and Chemother Chicago*, J. L., 1991; Abstract 145: 123.
307. BERGAN, T.; CARLSEN, I. B.; FUGLEANG, J. E.: "An *in vitro* model for monitoring

bacterial responses to antibiotic agents under simulated in vivo conditions". *Infection*, 1980; 8: 96-102.

308. RESCOTT, D. L.; NIX, D. E.; HOLDEN, P.; SCHENTAG, J. J.: "Comparison of two methods for determining in vitro postantibiotic effect of three antibiotics on *Escherichia coli*". *Antimicrob. Agents and Chemother*, 1988; 32: 450-453.

309. MENG, X.; NIGHTINGALE, C. H.; SWEENEY, K. T.: "Quantitation of *in vitro* post-antibiotic effect based on the mean recovery time. J. Theoretical perspectives and a practical procedure". *J. Antimicrob. Chemother*, 1991; 28: 505-514.

310. GOULD, I. M.; JASON, A. C.; MILNE, K.: "Postantibiotic effect and bacterial killing by ciprofloxacin and imipenem alone and in combination". *Rev. of Inf. Dis.*, 1989; 11: 957-958.

311. BUSH, L. M.; BORCIA, J. A.; KAYE, D.: "Daptomycin (LY 146032) treatment of experimental enterococci endocarditis". *Antimicrob. Agents and Chemother*, 1988; 32: 877-881.

312. WINSTANLEY, T. G.; HASTING, J. G. M.: "Penicillin-aminoglycoside synergy and postantibiotic effect for enterococci". *J. Antimicrob. Chemother*, 1989; 23: 189-199.

313. MOLLERING, R. C.; ELIPOULOS, G. M.; SENTOCHIK, D. E.: "The carbapenems: new broad spectrum beta-lactam antibiotic". *J. Antimicrob. Chemother*, 1989; 24 (Supplement A): 1-7.

314. GUDMUNDSSON, A.; ERLENDSDOTTIR, H.; GOTTFREDSSON, M.: "The postantibiotic effect induced by antimicrobial combinations". *Scand. J. Infect. Dis.*, 1991; 74: 80-93.

315. GOULD, I. M.; MILNE, K.; HARVEY, G., AND JASON A. C.: "Ionic binding, adaptive resistance and postantibiotic effect of netilmicin and ciprofloxacin". *J. Antimicrob. Chemother*, 1991; 27: 741-748.

316. FUURSTED, K.: "Postantibiotic effect of ciprofloxacin on *P. aeruginosa*". *Eur. J. Clin. Microbiol.*, 1989; 6: 271-274.
317. CRAIG, W. A.; GUDMUNDSSON, M. D.: "The postantibiotic effect. En: LORIAN, V. (Ed.): *Antibiotics in laboratory medicine*. Williams and Wilkins, 2.^a ed. Baltimore, 1989; 515-536.
318. VOGELMAN, B. S.; CRAIG, W. A.: "Kinetics of antimicrobial". *J. Pediatr.*, 1986; 108: 835-840.
319. MÍNGUEZ, F.; REDONDO, M.; CORRALES, J.; PRIETO, J.: "Efecto postantibiotic de amoxicilina más ácido clavulánico sobre *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*". *Rev. Esp. Microbiol. Clín.* Septiembre, 1988; 551-557.
320. GERBER, A. V.; CRAIG, W. A.: "Growth kinetics of respiratory pathogens after short exposure to ampicillin and erythromycin *in vitro*". *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 1981; 8 (Suppl.): 581-591.
321. GUDMUNDSSON, A.; ERLENDSDOTTIR, H.; GOTTFREDSSON, M.: "Impact of pH and cationic supplementation on *in vitro* postantibiotic effect". *Antimicrob. Agents Chemother*, 1991; 35 (12): 2617-2624.
322. MÍNGUEZ, F.; RAMOS, C.; BARRIENTOS, S.; PRIETO, J.: "Postantibiotic effect of ciprofloxacin compared with that of five other quinolones". *Chemotherapy*, 1991; 37 (6): 420-425.
323. CHIN, N. X.; NEU, H. C.: "Postantibiotic suppressive effect of ciprofloxacin against gram-positive and gram-negative bacteria". *Am. J. Med.*, 1987; 82 (Suppl. 4A): 58-61.
324. MÍNGUEZ, F.; GÓMEZ-LUS, M. L.; GOMIS, M.; PRIETO, J.: "Comparative study of the postantibiotic effect of cefotaxime, amoxicillin, ofloxacin and pefloxacin". *Rev. Infect. Dis.*, 1991 (Suppl. 5): 955-967.
325. GÜRDAL, H.; TULUNAY, F. C.; ALTAY, G.: "Postantibiotic effect of ofloxacin and the activity of Mg". *J. Antimicrob. Chemother*, 1990; 26: 291-300.

326. WISE, R.; LISTER, D.; McNULTY, A. M.; GRIGGS, D.; ANDREWS, J. M.: "The comparative pharmacokinetics of five quinolones". *J. Antimicrob. Chemother*, 1986; 18 (D): 71-82.
327. MÍNGUEZ, F.; CORRALES, I.; GÓMEZ-LUS, M. L.; PRIETO, J.: "Valoración del efecto postantibiótico de cinco grupos de antimicrobianos sobre *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*". *Rev. Esp. Quimioterap.* Junio, 1989; vol. II (2): 161-165.
328. WISE, R.; LISTER, D.; McNULTY, C. A. M.; GRIGGS, D.; ANDREWS, J. M.: "The comparative pharmacokinetics of five quinolones". *J. Antimicrob. Chemother*, 1989; 18 (D): 71-82.
329. CRUMPLIN, G. C.; SMITH, J. T.: "Nalidixic acid: an antibacterial paradox". *Antimicrob. Agents. Chemother*, 1985; 8: 251-261.
330. SMITH, J. T.; LEWIN, C. C.: "Química y mecanismos de acción de los antibacterianos quinolonas". ANDRIOLE V. T. (Ed.). *Las quinolonas*. Academic Press, INC. San Diego, Ca., 1989; 25-28.
331. REEVES, D. S., *et al.*: "The activity of enoxacin against clinical bacterial isolates in comparison with that of five other agents and factor affecting that activity". *J. Antimicrob. Chemother*, 1984; 13: 333-346.
332. STEVENS, P. I.: "Bactericidal effect against *Escherichia coli* of nalidixic acid and four structurally related compounds". *J. Antimicrob. Chemother*, 1980; 6: 535-542.
333. HISCOKE, C.; YOXALL, H.; GREIG, D.; LIGHTFOOT, N. F.: "Validation of a method for the rapid diagnosis of urinary tract infection suitable for use in general practice". *Br. J. Gen. Pract.*, 1991, January; 41 (342): 37-38.
334. LEJEUNE, B.; BARON, R.; GUILLOIS, B.; MAYEUX, D.: "Evaluation of a screening test for detecting urinary tract infection in newborns and infants". *J. Clin. Pathol.*, 1991; 44: 1029-1030.

335. SHAW, K. N.; HEXTER, D.; MCGOWAN, K. L.; SANFORD, J.: "Clinical evaluation of a rapid screening test for urinary tract infections in children". *J. Pediatrics*, 1991; 118: 733-736.
336. PELS, R. J.; BOR, D. H.; WOOLHANDLER, S.; HIMMELSTEIN, D. U.; LAWRENCE, R. S.: "Dipstick urinalysis screening of asymptomatic adults for urinary tract disorders". *JAMA* 1989; 262 (9): 1221-1224.
337. BACHMAN, J. W.; HEISE, R. H.; NAESSENS, J. M.; TIMMERMAN, M. G.: "A study of various tests to detect asymptomatic urinary tract infections in an obstetric population". *JAMA*, 1993; 270 (16): 1971-1974.
338. STAMM, W. E.: "Measurement of pyuria and its relation to bacteriuria". *The American Journal of Medicine*, 1983, 28: 53-57.
339. WILKINS, E. G. L.; RATCLIFFE, J. G.; ROBERTS, C.: "Leucocyte esterase-nitrite screening method for pyuria and bacteriuria". *J. Clin. Pathol.*, 1985; 38: 1342-1345.
340. PALLARÉS, J.; CASAS, J.; MARQUET, R.; SOLANS, P.; MUXI, C.; IBARS, I.: "Evaluación de diferentes métodos de diagnóstico rápido en la detección de bacteriuria asintomática en la gestante". *Atención Primaria*, 1990; 7 (9): 547-550.
341. GOSWITZ, J. J.; WILLARD, K. E.; EASTEP, S. J.; SHANHOLTZER, C. J.; OLSON, M. L.; PINNELL, M.; PETERSON, L. R.: "Utility of slide centrifuge gram's stain versus quantitative culture for diagnosis of urinary tract infection". *Am. J. Clin. Pathol.*, 1993, febrero, 99 (2): 132-136.
342. LOCKHART, G. R.; LEWANDER, W. J.; CIMINI, D. M.; JOSEPHSON, S. L.: "Use of urinary gram stain detection of urinary tract infection in infants". *Ann. Emerg. Med.*, 1995, January, 25 (1): 31-35.
343. NIGHTINGALE, C. H.; BELLIVEAU, P. P.; QUINTILIANI, T.: "Problemas y consideraciones sobre el coste en la selección de un antimicrobiano". *Infect. Dis. Clin. Practice* (edición española), 1994; 3: 154-158.

344. EISEN, S. A.; MILLER, D. K.; WOODWARD, R. S., *et al.*: "The effect of prescribed daily dose frequency on patient medication compliance". *Arch. Intern. Med.*, 1990; 150: 1881-1884.
345. O'HANRAHAN, M.; O'MALLEY, K.: "Compliance with drug treatment". *B. M. J.*, 1981; 283: 298-300.
346. HOOTON, T. M.; WINTER, C.; TIU, F.; STAMM, W. E.: "Randomized comparative trial and cost analysis of 3-day antimicrobial regimens for treatment of acute cystitis in women". *JAMA*, January 4, 1995; 273 (1): 41-45.